



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DOCTOR EN BIOLOGÍA

Ecología reproductiva de la raya de círculos

***Atlantoraja cyclophora* en el área costera bonaerense**



Lic. Anahí Wehitt

Directora de Tesis: Dra. Elena J. Galíndez

Director asistente de Tesis: Dr. Gustavo J. Macchi

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2019



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DOCTOR EN BIOLOGÍA

Ecología reproductiva de la raya de círculos
***Atlantoraja cyclophora* en el área costera bonaerense**

Lic. Anahí Wehitt

Directora de Tesis: Dra. Elena J. Galíndez

Director asistente de Tesis: Dr. Gustavo J. Macchi

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2019

PREFACIO

Esta tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otras. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Laboratorio de Citología, Histología y Embriología Animal, dependiente del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia y en el Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), durante el periodo comprendido entre Noviembre de 2014 y Febrero de 2019, bajo la dirección de la Dra. Elena J. Galíndez, profesora adjunta del Dto. de Biología Bioquímica y Farmacia y el Dr. Gustavo J. Macchi, director del Laboratorio de Ecoloología Reproductiva de Organismos Marinos (ECOR) del INIDEP e investigador independiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y técnicas (CONICET).

Lic. Anahí Wehitt



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/...../....., mereciendo la calificación de (.....).

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mis directores, la Dra. Elena Galíndez y el Dr. Gustavo Macchi, por su cariño y apoyo. A Elena, por sus consejos de madre y directora, por transmitirme su conocimiento, dedicación y su gusto por la histología, desde mi primer día en el laboratorio. A Gustavo, por estar siempre presente y brindarme su tiempo y conocimiento en cada momento. Gracias por confiar en mí y guiarme durante estos años de mi formación.

Al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur, al Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR), al Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP) y al Laboratorio de Citología, Histología, Embriología Animal (CHEA), por brindarme los medios necesarios para la realización de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Secretaría General de Ciencia Tecnología (SGCyT) de la Universidad Nacional del Sur, por subsidiar esta tesis.

A la Dra. Ana Massa, por recibirme y darme la oportunidad de desarrollar mi trabajo dentro del programa Pesquerías de Condrictios del INIDEP y a todos los integrantes del programa. A la Lic. Natalia Hozbor y al Dr. Mariano Elisio, por su ayuda y colaboración desde el principio y por juntarme las muestras para histología. Al Dr. Jorge Colonello, por brindarme su ayuda en todo momento. Por su paciencia y sus consejos, que fueron un gran aporte para esta tesis y fundamentalmente, enriquecieron mi formación. Gracias a todos ellos por hacer posible la realización de esta tesis.

A todos los integrantes del gabinete de histología del INIDEP, por compartir su lugar para que pueda procesar las muestras. A Marta Estrada, por su afecto y buena predisposición para ayudarme.

Al Lic. Ricardo Camina, por el asesoramiento estadístico y por preocuparse y ofrecerme siempre su ayuda y su tiempo.

A mi profe de inglés, Silvana Fernández por su cariño y corrección de los manuscritos.

A la Dra. Silvia Estecondo, por su alegría y cariño, por confiar en mí desde el primer momento y darme un lugar para que pueda formarme.

A todo el grupo de CHEA y a mis compañeras de laboratorio, las doctoras Carolina Moya y Constanza Díaz Andrade, por su amistad y de quienes aprendí mucho todos estos años. A Caro por todos los momentos hermosos que compartimos en el labo, en

los viajes y en los muestreos. Por preocuparse siempre y compartir conmigo sus experiencias, buenas y malas, que fueron de gran ayuda para mí. A Connie, por su predisposición y ayuda desinteresada. Por las horas compartidas de charlas y mates y contagiarme su alegría. Por sus aportes e ideas que enriquecieron mucho este trabajo.

A mis papás, por su apoyo, por darme la oportunidad de estudiar y la confianza y libertad para elegir mi camino. Porque con su ejemplo me enseñaron el valor del sacrificio y el esfuerzo. Esta tesis se la dedico a ellos.

A mi familia entera; abuelos, hermanos, tíos, suegros, primos y sobrinas, por su apoyo y cariño. A mi prima Sandra, por recibirme en su casa en cada viaje a Mar del Plata.

A todos mis amigos, de Suárez, de Mardel y Bahía, por estar siempre a pesar de la distancia. A Roy, que se fue demasiado pronto y a quien recuerdo con mucho cariño, por todos los momentos lindos que compartimos durante el primer año del doctorado. A Nairchu, mi hermana de la vida, por no fallarme nunca y por recibirme siempre con una sonrisa. Por cuidarme y preocuparse de que no me tome el cole equivocado para ir al INIDEP.

A Facu, por seguir acompañándome, por ayudarme a cumplir mis sueños y a no bajar los brazos. Gracias por no perder la paciencia, por estar siempre y compartir conmigo todos estos años!.

RESUMEN

En este trabajo se analizan la morfología del aparato reproductor, la biología reproductiva y la distribución y abundancia de la raya *Atlantoraja cyclophora* en el Distrito Biogeográfico Bonaerense, entre los 34° y 42°S.

El material analizado provino de campañas de investigación realizadas por el Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP) y de la compra de ejemplares desembarcados en el Puerto de Mar del Plata.

La organización anatómica del sistema reproductor de *A. cyclophora* es semejante a la observada en otros Rájidos. Tanto machos como hembras, presentan gónadas pares e igualmente funcionales asociadas con el órgano epigonal. Los conductos genitales de los machos están revestidos por un epitelio simple cilíndrico ciliado, que se pliega tomando el aspecto de pseudoestratificado hacia la porción más distal. Los espermatozoides se encuentran libres en el inicio de los conductos y se agregan progresivamente resultando en un empaquetamiento similar al de tipo *espermatozeugmata* en la vesícula seminal. Los conductos genitales de las hembras están adaptados a la oviparidad. El grado de desarrollo y complejidad de las glándulas oviductales se refleja en la producción de cápsulas coriáceas rígidas y resistentes para la protección del embrión en desarrollo. Las adaptaciones morfológicas e histológicas de los úteros contribuirían con oscurecimiento, esclerotización y desplazamiento de las cápsulas para oviposición.

A partir del análisis de los parámetros reproductivos se detectó dimorfismo sexual en la longitud total máxima (LT), ancho de disco (AD), peso total (PT) y peso del hígado (PH) con respecto a la longitud. Las hembras resultaron ser más largas, anchas y pesadas que los machos para una misma longitud. El carácter dimórfico de las relaciones PT-LT y PH-LT estaría asociado al inicio de la madurez sexual y a los requerimientos energéticos que implica la reproducción. La longitud a la cual el 50% de los individuos maduran sexualmente (LT_{50}) se estimó en 537 mm LT para machos y 570 mm LT para hembras y corresponde al 79,7% y 80,4% de la talla máxima observada (674 mm LT machos y 709 mm LT hembras), respectivamente. Estos resultados son consistentes con lo observado en la mayoría de los Rájidos e implican que los individuos de *A. cyclophora* presentan una etapa juvenil extendida y al llegar a la madurez sexual la mayor inversión energética sería destinada a la reproducción. Asimismo, los valores de LT_{50} registrados aquí, superan a los estimados para esta especie en el Distrito Sudbrasileño y apoyan la tendencia del incremento de los parámetros de historia de vida en función de la latitud. Con respecto a la actividad reproductiva, las hembras de *A. cyclophora* presentan un ciclo reproductivo anual con un posible pico estacional durante la primavera mientras que los machos tendrían la capacidad de reproducirse a lo largo del año, dada la falta de variación en el peso testicular.

Dentro del área de estudio la población de *A. cyclophora* se compone principalmente por individuos juveniles. La especie presenta un patrón de distribución espacial heterogéneo, concentrándose principalmente en la zona de El Rincón y frente a la costa este y sur de Uruguay, donde se registraron las mayores abundancias. *Atlantoraja cyclophora* fue capturada entre los 10,9 y 53,6 m de profundidad, a temperaturas entre 8,5 y 19,2°C y entre los 26,6 y 34,1 ppm de salinidad. Tanto para el área del Río de la Plata como en El Rincón, la especie presenta preferencia por la profundidad y no sería afectada significativamente por las variaciones estacionales de temperatura de fondo. Los juveniles se distribuyen desde aguas de baja profundidad (13 m) hasta la isobata de los 50 m, mientras que los adultos predominan a partir de los 30 m de profundidad

La región costera bonaerense es un área que alberga una gran variedad de especies marinas y cumple un rol importante en los ciclos de vida de los peces cartilaginosos. A su vez, esta región concentra los principales puertos de desembarque de tiburones y rayas, siendo estas últimas declaradas bajo una misma categoría sin discriminar a nivel específico. *Atlantoraja cyclophora* es capturada como fauna acompañante de otras pesquerías industriales y se encuentra entre las principales especies de rayas desembarcadas. Las zonas de mayor concentración de la especie se componen principalmente de estadios ontogenéticos de los que depende la tasa de crecimiento de la población (juveniles y hembras con cápsulas). Este hecho, sumado a la prolongada etapa juvenil que presentan los individuos, resalta su vulnerabilidad frente a la explotación pesquera.

Los resultados de trabajo aportan información significativa sobre la ecología reproductiva de *A. cyclophora* que, además de su interés biológico, pueden ser de utilidad para la elaboración de medidas de manejo y conservación de la especie.

ABSTRACT

The morphology of the reproductive system, the reproductive biology and the distribution and abundance of the skate *Atlantoraja cyclophora* in the Biogeographic Bonaerensean District, between 34° and 42°S, are analyzed in this work.

The material came from research cruises carried out by the National Institute of Fisheries Research and Development (INIDEP) and from the purchase of specimens landed in the Mar del Plata Port.

The anatomical organization of the reproductive system of *A. cyclophora* is similar to that observed in other Rajids. Both, males and females, present pairs gonads, equally functional, and associated with the epigonal organ. Male's genital ducts are lined by a simple ciliated columnar epithelium, which folds taking the aspect of pseudostratified towards the most distal portion. The sperm are free at the beginning of the ducts and are added progressively resulting in a similar aggregation to the *spermatozeugmata* type in the seminal vesicle. Female's genital ducts are adapted to oviparity. The degree of development and complexity of the oviductal glands is reflected in the production of rigid and resistant egg capsules for the protection of the developing embryo. The morphological and histological adaptations of the uteri would contribute with tanning, sclerotization and displacement of the capsules for oviposition.

From the analysis of the reproductive parameters, sexual dimorphism was detected in the maximum total length (TL), disc width (DW), total weight (TW) and liver weight (LW) with respect to the length. Females were longer, wider and heavier than males for the same length. The dimorphic character of the TW-TL and LW-TL relationships would be associated with the onset of sexual maturity and with the energetic requirements that reproduction implies. The length at which the 50% of the individuals attain the sexual maturity (TL_{50}) was estimated at 537 mm TL for males and 570 mm TL for females and corresponds to 79,7% and 80,4% of the maximum size observed (674 mm TL males and 709 mm TL females), respectively. These results are consistent with those observed in most of the Rajids and imply that the individuals of *A. cyclophora* have an extended juvenile stage, and when they reach sexual maturity, the greatest energy investment would be destined to reproduction. Likewise, the values of TL_{50} recorded here overcome those estimated for this species in the Southbrazilian District, and support the tendency of the increase of the life history parameters related to latitude. With respect to the reproductive activity, *A. cyclophora* females present an annual reproductive cycle with a possible seasonal peak during the spring, while the males would have the capacity to reproduce throughout the year, given the lack of variation in the testicular weight.

This study showed that the population of *A. cyclophora* from the bonaerensean area is composed mainly of juvenile individuals. The species presents a heterogeneous spatial distribution pattern, concentrating mainly in El Rincón area and off the east and south coast of Uruguay, where the highest abundances were recorded. *Atlantoraja*

cyclophora was captured between 10,9 and 53,6 m depths, at temperatures between 8,5 and 19,2°C, and between 26,6 and 34,1 ppm salinity. For both Río de la Plata and El Rincón areas, the species has a preference for depth and would not be significantly affected by seasonal variations in background temperature. The juveniles are distributed from shallow waters (13 m) to the isobath of 50 m, while adults predominate from 30 m depth to deeper waters.

The coastal bonaerensean region is an area that harbors a great variety of marine species and plays an important role in the life cycles of cartilaginous fishes. In turn, this region concentrates the main landing ports for sharks and rays, the latter being declared under the same category without discriminating at a specific level. *Atlantoraja cyclophora* is caught as an accompanying fauna of other industrial fisheries and is among the main species of rays landed. The zones of greater concentration of the species are composed mainly of ontogenetic stages on which the growth rate of the population depends (juveniles and egg laying females). This fact, added to the prolonged juvenile stage that individuals present, highlights their vulnerability to fishing exploitation.

The results of this work provide significant information on the reproductive ecology of *A. cyclophora* that, in addition to its biological interest, may be useful for the development of management strategies for conservation of the species.

ÍNDICE

Prefacio	i
Agradecimientos	ii
Resumen	iv
Abstract	vi
Capítulo 1. Introducción general	1
Características reproductivas de los peces cartilaginosos	1
Historia de vida	3
Divisiones zoogeográficas del Océano Atlántico Sudoccidental	5
Explotación comercial de peces cartilaginosos	7
Antecedentes de la especie en estudio	8
Objetivo general e hipótesis de trabajo	9
Capítulo 2. Materiales y métodos	10
Descripción del área de estudio	10
Obtención de las muestras	12
Metodología	13
Capítulo 3. Morfología de los órganos reproductivos de <i>A. cyclophora</i>	17
Introducción	17
Metodología	19
Resultados	21
Sistema reproductor masculino	21
Sistema reproductor femenino	32
Discusión	45
Capítulo 4. Estimación de parámetros reproductivos de <i>A. cyclophora</i>	52
Introducción	52
Análisis de los datos	53
Resultados	58
Discusión	66
Capítulo 5. Distribución espacial y abundancia de <i>A. cyclophora</i> en relación con las características ambientales	70
Introducción	70

Metodología	71
Resultados	75
Discusión	90
Capítulo 6. Consideraciones finales y conclusiones	93
Referencias Bibliográficas	101

CAPÍTULO 1

Introducción General

Los peces cartilagosos (Clase Chondrichthyes) conforman un grupo evolutivamente conservado que ha sobrevivido por más de 400 millones de años (Compagno, 1990; Grogan y Lund, 2004). Dentro de este grupo, existen dos subclases que representan la etapa más temprana en la evolución de los vertebrados mandibulados: los Elasmobranquios, que a su vez se dividen en Selacios (tiburones) y Batoideos (rayas) y en los Holocéfalos o peces quimera (Compagno, 1990; Nelson, 2016). Las dos principales radiaciones adaptativas, ocurridas en la segunda mitad del Devónico (380 Ma) y comienzo del Jurásico (200 Ma), dieron lugar a una amplia gama de especies de condriictios. Estos, adquirieron características anatómicas y estilos de vida diferentes, que les permitieron diversificarse en distintos nichos durante el período Cretácico (Collin, 2012; Kimley, 2015). En la actualidad, se estima que existen 509 especies de tiburones, 630 especies de batoideos y 49 especies de quimeras (Weigmann, 2016). Las rayas (Anacanthobatidae, Arhynchobatidae y Rajidae) son un grupo diverso que representa más del 22% de todas las especies de condriictios conocidas y alrededor del 43% dentro de los batoideos (Ebert y Compagno, 2007).

Características reproductivas de los peces cartilagosos

El éxito evolutivo de los Condriictios se atribuye, en gran medida, a las estrategias reproductivas desarrolladas a lo largo de su evolución. A diferencia de los peces óseos, los peces cartilagosos cuentan con modos reproductivos que no involucran estadios larvales y resultan en la producción de un pequeño número de descendientes (Wourms, 1977; Carrier *et al.*, 2004; Musick y Ellis, 2005; Walker, 2005). Al nacer, las crías son relativamente grandes y activas y se encuentran completamente desarrolladas, lo que acrecienta sus posibilidades de supervivencia (Compagno, 1990; Carrier *et al.*, 2004; Musick y Ellis, 2005).

El sistema reproductor de los Condriictios está especializado para la fertilización interna. Los machos, cuentan con un par de órganos copuladores (*claspers* o mixopterigios) que son modificaciones de las aletas pélvicas, mientras que las hembras presentan un tracto reproductivo adaptado para la recepción del *clasper* y la contención de los ovocitos fertilizados (Wourms, 1977; Carrier *et al.*, 2004; Musick y Ellis 2005; Hamlett *et al.*, 2005a, 2005b).

Dependiendo del tiempo en que las hembras retienen a los embriones y el tipo de puesta o parición, los Elasmobranquios se separan en dos grupos: ovíparos (puesta

de huevos) y vivíparas (liberación de crías vivas) (Wourms, 1977; Carrier *et al.*, 2004; Musick y Ellis, 2005). Asimismo, existe una diversidad de modos reproductivos basados en el tipo de nutrición fetal y en la relación trófica materno-embionaria. En base a esto, se consideran dos categorías: el lecitotrofismo, donde el desarrollo embrionario es soportado únicamente por el contenido del saco vitelino y el matrotrofismo, donde al menos parte del desarrollo embrionario es sustentado por un aporte materno de nutrientes adicional (Hamlett y Wourms, 1984; Wourms y Demski, 1993; Carrier *et al.*, 2004; Awruch, 2015).

Las especies ovíparas, retienen los embriones por cortos periodos de tiempo y los depositan en el ambiente, dentro cápsulas coriáceas. Todas las especies ovíparas son lecitotróficas. El vitelo es producido mayormente por el hígado materno y llega al embrión en desarrollo mediante el pedúnculo vitelino, el cual se une directamente al tracto digestivo de la cría (Hamlett y Koob, 1999; Hamlett *et al.*, 2005a). Se conocen dos tipos de oviparidad: la oviparidad simple o externa y la oviparidad múltiple o retenida (Musick y Ellis, 2005). En el primer caso, las cápsulas son liberadas generalmente de a pares, desde cada útero. El desarrollo embrionario ocurre fuera del cuerpo materno, en un período que va desde menos de dos meses a más de un año. Todas las especies de rayas y quimeras, así como también algunos tiburones, presentan esta modalidad (Heterodontiformes, Orectolobiformes y Carcharhiniformes) (Compagno, 1990; Musick y Ellis, 2005). En la oviparidad múltiple, uno o varios huevos son retenidos en el útero. El desarrollo embrionario alcanza una etapa avanzada antes de la oviposición y se completa en un tiempo relativamente corto fuera del cuerpo de la madre (Compagno, 1990). Esta modalidad ha sido reportada en algunos Carcharhiniformes (Awruch, 2015).

Las especies vivíparas, retienen a los embriones hasta que estos completan su desarrollo, de modo que al ser liberados, los neonatos se encuentran listos para valerse por sí mismos (Hamlett *et al.*, 2005b). Al igual que en las especies ovíparas, los huevos están recubiertos por una envoltura terciaria delgada, producida por la glándula oviductal, la cual puede perdurar, desaparecer o modificarse en función del modo reproductivo (Koob y Callard, 1991; Hamlett y Koob, 1999). Dentro de la viviparidad, la nutrición puede ser lecitotrófica (denominado históricamente como "ovoviviparidad") o matrotrófica. La primera, es un modo aplacentario donde no existe una conexión física entre la madre y el embrión y los nutrientes provienen exclusivamente del vitelo acumulado en el saco vitelino (Wourms, 1977; Hamlett y Koob, 1999; Musick y Ellis 2005). En la segunda, los nutrientes son suministrados inicialmente por el saco vitelino y complementados por el aporte materno, a través de diversos mecanismos que van desde el matrotrofismo parcial a la placentotrofia (Wourms, 1981; Carrier *et al.*, 2004; Hamlett *et al.*, 2005a, 2005b; Gilmore *et al.*, 2005; Awruch, 2015). Dentro del matrotrofismo, existen diversas fuentes de nutrientes:

- secreciones uterinas (histotrofismo): ricas en lípidos y proteínas, los cuales son absorbidos por el embrión a partir de vellosidades uterinas. Esta estrategia ha sido

reportada en rayas, myliobátidos (mantarrayas) y tiburones Carcharhiniformes (Hamlett *et al.*, 2005b; Musick y Ellis, 2005; Galíndez *et al.*, 2010);

-ovocitos no fertilizados (oofagia): en este caso, se liberan ovocitos no fertilizados y se almacenan en el útero, para ser consumidos por los embriones en desarrollo una vez agotadas las reservas vitelinas. Esta modalidad es típica en tiburones Lamniformes (Gilmore *et al.*, 2005) y Carcharhiniformes (Pseudotriakidae) (Yano, 1992, 1993);

-embriones en desarrollo (adelfofagia o canibalismo intrauterino): estos embriones con desarrollo detenido, son consumidos por el embrión de mayor tamaño. Este modo reproductivo es una adaptación de la oofagia y se encuentra presente en el tiburón *Carcharias taurus* (Gilmore *et al.*, 1983, 2005; Hamlett y Koob, 1999);

-formación de una placenta (placentotrofia), que se desarrolla a partir del saco vitelino y conecta físicamente a la madre con el embrión (Hamlett *et al.*, 2005b; Otake, 1990). Este tipo de estrategia sucede solo en Carcharhiniformes (Compagno, 1990; Musick y Ellis, 2005).

Otra estrategia que maximiza el éxito reproductivo de los Condriictios, es la capacidad que presentan las hembras de varias especies, de almacenar esperma en las glándulas oviductales (Pratt, 1993; Hamlett *et al.*, 2002a; Galíndez y Estecondo, 2008; Storrie, 2008). Por su parte, los machos suelen presentar agregación espermática, la cual impide la pérdida de esperma durante la cópula. En conjunto, estas adaptaciones garantizan la fertilización de los ovocitos y la perpetuación de la puesta de huevos. Al mismo tiempo, favorecen el almacenamiento de esperma de múltiples donantes (poliandria), asegurando la diversidad genética de los descendientes (Pratt, 1993; Conrath, 2005; Jones *et al.*, 2005; Storrie, 2008).

Historia de vida

Dentro del conjunto de rasgos biológicos que definen la historia de vida de los peces cartilaginosos, se pueden mencionar: crecimiento lento, edad de madurez tardía, baja fecundidad y productividad, gestación prolongada y longevidad (Hoening y Gruber, 1990; Cailliet *et al.*, 2005). Las relaciones entre el crecimiento, la edad, la talla de madurez y la longevidad, son relativamente consistentes entre una amplia gama de taxones y se consideran invariantes en la historia de vida (Beverton y Holt, 1959; Dulvy y Forrest, 2010; Rigby y Simpfendorfer, 2015).

El estudio de las relaciones entre los parámetros reproductivos, permite acceder a rasgos de la historia de vida de las especies, los cuales se utilizan como indicadores de su vulnerabilidad (Frisk *et al.*, 2002). La relación entre la longitud de madurez sexual y la proporción que ésta representa sobre la longitud máxima, refleja que los condriictios alcanzan la madurez a tallas relativamente grandes (Dulvy *et al.*, 2000; Francis *et al.*, 2001; Ebert, 2005; Díaz Andrade, 2010). Para el caso particular de los rájidos, se han calculado edades y tallas de madurez sexual entre un 60 y 64% de la

edad máxima y entre un 60 y 90% de la talla máxima con longevidades promedio estimadas en 17,5 años (Frisk, 2010). Las especies de condriktios que alcanzan mayores longitudes y maduran más tarde, suelen ser más vulnerables a la presión de pesca y a la sobreexplotación (Dulvy *et al.*, 2000; Stevens *et al.*, 2000; Dulvy y Reynolds, 2002). Por otro lado, estos parámetros deben ser analizados para cada sexo por separado, dado que el dimorfismo sexual secundario en el tamaño corporal y en la talla de madurez es una característica de muchos elasmobranquios (Ebert *et al.*, 2008a, 2008b). En las especies vivíparas, las hembras pueden alcanzar longitudes máximas y tallas de madurez que superan las de los machos, mientras que en las especies ovíparas, este dimorfismo es variable y los machos pueden exceder o igualar las tallas de las hembras, o pueden alcanzar la madurez sexual con longitudes mayores. Se presume que una correlación positiva entre la fecundidad y el tamaño de la hembra, favorece su capacidad para llevar un número mayor de crías o embriones de mayor tamaño (Conrath, 2005).

Otro aspecto a considerar sobre los Condriktios, es que en aquellas especies de amplia distribución geográfica, es posible observar el incremento en determinados parámetros de historia de vida en función de la latitud. La talla máxima, la talla y edad de madurez sexual, la fecundidad y la longevidad de una especie dada, pueden variar entre diferentes áreas geográficas (Templeman, 1987; Chiaramonte y Pettovello, 2000; Yamaguchi *et al.*, 2000; Frisk y Miller, 2006; Colonello *et al.*, 2007c; Licandeo y Cerna, 2007; Taylor *et al.*, 2016). Estas variaciones intraespecíficas asociadas a la latitud, están moldeadas por la combinación de factores físicos y ambientales locales, los cuales también pueden influir sobre la estrategia reproductiva y la distribución espacial de una especie (Colonello, 2009).

Las estrategias reproductivas que exhiben los peces cartilaginosos se asocian a tres tipos básicos de ciclos reproductivos: reproducción continua a lo largo de todo el año; un ciclo anual parcialmente definido, con uno o dos picos de actividad reproductiva; o un ciclo anual o plurianual bien definido (Wourm, 1977; Wourms y Demski, 1993; Hamlett y Koob, 1999). En el caso particular de las rayas, estos patrones reproductivos pueden variar entre las especies según el tipo hábitat. En los ambientes costeros, la temperatura y el fotoperiodo pueden influir directamente en la duración de la actividad reproductiva y la tasa de puesta de huevos (Holden *et al.*, 1971; Holden, 1975). Las especies de aguas poco profundas pueden tener ciclos reproductivos con picos estacionales o reproducirse en un periodo acotado del año (Hamlett y Kobb, 1999). Por otro lado, en los ambientes de aguas profundas, la actividad reproductiva de las especies no se encuentra afectada debido a la falta de estacionalidad en las condiciones ambientales. Las hembras depositan cápsulas de huevos durante todo el año y es común la ausencia de picos en la actividad reproductiva (Ruocco *et al.*, 2006; Senna, 2011).

Como se mencionó anteriormente, los factores ambientales, participan activamente en la distribución espacial de los individuos. La profundidad, la

temperatura y la salinidad (Menni y Stehmann, 2000; Jaureguizar *et al.*, 2006; Menni *et al.*, 2010) pueden generar diferencias ontogenéticas en el uso del hábitat y conducir a la segregación espacial de los individuos (Ruckstuhl y Neuhaus, 2005). La segregación por sexo y estadio de madurez sexual es una característica común de los condriictios y puede estar asociada tanto a actividades reproductivas (agregaciones de adultos y movimientos estacionales para la parición o puesta de huevos), como a la competencia intraespecífica, por la disponibilidad de refugio y de alimento (Sims *et al.*, 2001; Wearmouth y Sims 2010).

Divisiones zoogeográficas del Océano Atlántico Sudoccidental

El patrón de distribución de los peces genera ensambles que definen regiones o provincias zoogeográficas, las cuales presentan diferencias en su composición específica. En el Océano Atlántico Sudoccidental se reconocen dos grandes áreas biogeográficas que limitan entre sí a la altura de los 42°S: La Provincia Argentina, de aguas cálidas subtropicales, que incluye los Distritos Sudbrasileño y Bonaerense y la Provincia Magallánica, de aguas frías subantárticas, representada por el Distrito Patagónico (Menni y Stehman, 2000; Menni *et al.*, 2010) (Figura 1.1). Dentro de este esquema, predominan tres ensambles específicos principales que definen, de forma más clara la zoografía del área: la fauna de aguas profundas de Brasil, la fauna Magallánica y la Provincia Templada del Atlántico Sudoccidental (Menni *et al.*, 2010). Esta última, comprende 32 especies que habitan desde Río de Janeiro (Brasil) hasta el sur de la Península de Valdés (Argentina). La especie *C. callorhynchus*, es la única representante de los Holocéfalos. Los géneros *Mustelus*, *Squalus* y *Carcharhinus* son los más representativos entre los seláceos, mientras que los batoideos se encuentran representados principalmente por los géneros *Rioraja*, *Sympterygia*, *Dipturus*, *Myliobatis* y *Atlantoraja* (Ebert y Compagno, 2007; Menni *et al.*, 2010). El género *Atlantoraja* es exclusivo del área e incluye a las especies *A. castelnaui*, *A. cyclophora* y *A. platana*.

Los condriictios de las aguas costeras del Atlántico Sudoccidental, entre los 34°S y 42°S, a profundidades menores a 50 m, constituyen el Distrito Bonaerense de la Provincia Templada del Atlántico Sudoccidental (Menni y Stehmann, 2000; Menni *et al.*, 2010). En esta región, se distinguen dos ensambles principales: un ensamble interno, asociado a aguas cálidas de baja salinidad y profundidad (menores a 25 m) y un ensamble externo, asociado a aguas más frías, de mayor salinidad y profundidad (mayores a 25 m). Este último conforma la "Fauna mixta de la plataforma interna", donde predomina *A. cyclophora* (Menni y Stehmann, 2000; Jaureguizar *et al.*, 2006; Menni *et al.*, 2010).

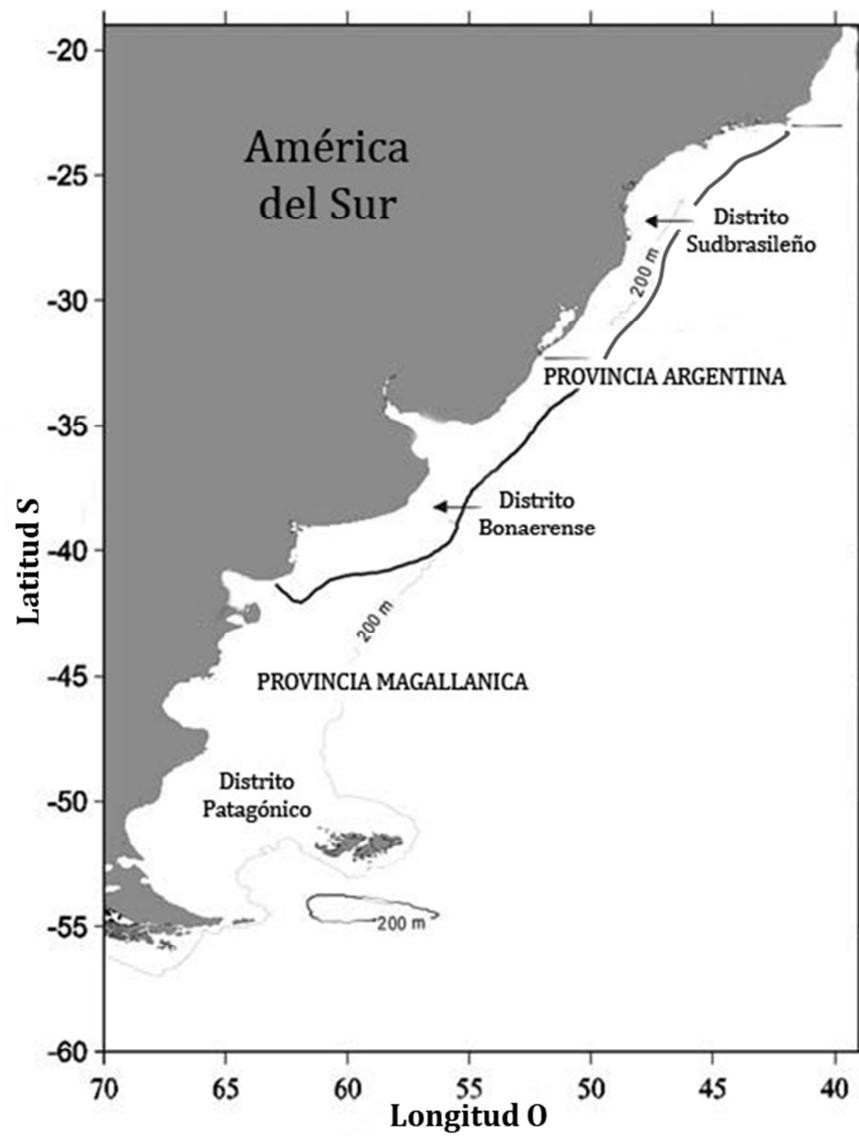


Figura 1.1. Divisiones zoogeográficas del Océano Atlántico Sudoccidental. Ilustración modificada de Menni *et al.*, 2010.

Explotación comercial de peces cartilaginosos

Las estrategias de vida de los condriktios, se caracterizan por evidenciar un bajo potencial reproductivo, lo cual limita la capacidad de respuesta de las poblaciones frente a la explotación pesquera intensiva. Esta característica hace que los peces cartilaginosos constituyan un recurso frágil y más susceptible que los peces óseos (Hoenig y Gruber, 1990; Bonfil, 1994; Camhi *et al.*, 1998). Hasta principios de la década de 1990, los condriktios eran principalmente objeto de capturas incidentales, los cuales eran descartados o destinados a la elaboración de harina de pescado (Massa *et al.*, 2004; Musick, 2005). La apertura de nuevos mercados internacionales, el reemplazo debido a las capturas decrecientes de muchos teleósteos y la creciente demanda de las aletas de tiburón, entre otros productos (carne, cartílagos, cuero, aceite, dientes y mandíbulas), estimularon el crecimiento de las pesquerías comerciales de condriktios en muchas regiones del mundo (Camhi *et al.*, 1998; Massa *et al.*, 2004). Las rayas en particular, son capturadas tanto por pesquerías dirigidas como por multiespecíficas debido al interés en su carne y aletas, aunque también constituyen un componente significativo de la captura incidental (*by-catch*) y del descarte de la flota comercial (Bonfil, 1994; Camhi *et al.*, 1998; Musick, 2005).

En la primera década de este siglo, las capturas mundiales de condriktios han registrado un promedio anual de 800 mil toneladas, siendo el periodo con mayores desembarques registrados desde el año 1950 (Bernasconi y Navarro, 2014). Dentro de ese mismo periodo, Argentina ocupó el 5^{to} puesto entre los países que registraron los mayores desembarques de condriktios, con un promedio anual de 380 mil toneladas (Patruco *et al.*, 2011; Bernasconi y Navarro 2014). En la actualidad, los peces cartilaginosos más desembarcados en nuestro país son: el gatuza (*Mustelus schmitti*), el pez ángel (*Squatina sp*), el pez gallo (*Callorhynchus callorhynchus*) y las rayas (Massa *et al.*, 2004; Patruco *et al.*, 2011; Bernasconi y Navarro 2014). En nuestro país, la estadística oficial engloba varias especies de batoideos en la categoría “rayas”. La mayor parte de ellas son capturadas como fauna acompañante de otras pesquerías industriales, tales como la de merluza (*Merluccius hubbsi*), corvina (*Micropogonias furnieri*) y langostino (*Pleoticus muelleri*) (Massa *et al.*, 2004; Cedrola *et al.*, 2005; Tamini *et al.*, 2006; Perez Comesaña *et al.*, 2011).

Si bien los condriktios se pescan en toda la Plataforma Continental Argentina, la mayor proporción se captura en la región costera bonaerense, entre 34°S y 42°S a profundidades menores a 50 m (Massa *et al.*, 2004; Tamini *et al.*, 2006; Perez Comesaña *et al.*, 2011; Hozbor y Massa, 2012; Perez Comesaña y Nogueira, 2013). En esta región, forman parte del conjunto íctico capturado por la pesquería multiespecífica, denominada “variado costero” (Lasta *et al.*, 2001) o Asociación Íctica Demersal Costera Bonaerense (Carozza *et al.*, 2001). Desde la década de 1990, el “variado costero” ha sufrido disminuciones importantes en las abundancias, tanto de las especies objetivo como de aquellas capturadas incidentalmente. Este fenómeno

estuvo asociado al incremento del esfuerzo pesquero sobre los peces cartilaginosos, a raíz de la caída de los *stocks* pesqueros de peces óseos de interés comercial (Lasta *et al.*, 2001; Massa *et al.*, 2004). El pez gallo *C. callorhynchus*, el pez guitarra chico *Zapterix brevirostris*, el pez guitarra grande *Rhinobatos horkelii*, el tiburón espinoso *Squalus acanthias* y las rayas *Atlantoraja castelnaui*, *A. cyclophora* y *Psammobatis spp* se vieron impactadas negativamente entre los años 1994 y 1999, llegando a disminuir su abundancia más del 50% (Lasta *et al.*, 1999; Massa *et al.*, 2004).

En respuesta al rápido incremento de los desembarques de condriktios en los últimos años y debido a la preocupación general sobre las posibles consecuencias en sus poblaciones, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) estableció el Plan de Acción Internacional para la Conservación y Manejo de Condriktios (PAI-Tiburones), cuyo principal objetivo es garantizar la conservación y gestión de los condriktios y su aprovechamiento sostenible a largo plazo. Dentro de este contexto, nuestro país implementó el Plan de Acción Nacional para la Conservación y el Manejo de Condriktios (PAN-Tiburones) en el año 2009, con el propósito de garantizar la conservación y explotación sustentable de los condriktios en los ámbitos bajo jurisdicción nacional (Consejo Federal Pesquero, Res. n° 6/2009).

Antecedentes de la especie en estudio

A. cyclophora (Figura 1.2), también conocida como “raya de círculos” o “raya ojona”, es una especie endémica del Océano Atlántico Sudoccidental, que se distribuye desde Cabo Frio, Brasil (22°S) hasta el Golfo San Jorge en Argentina (47°S) (Menni y Stehmann, 2000; Cousseau *et al.*, 2007). Es capturada como fauna acompañante a lo largo de toda su distribución, principalmente por pesquerías comerciales que utilizan redes de arrastre de fondo (Paesch y Domingo, 2003; Oddone y Vooren, 2005; Tamini *et al.*, 2006; Góngora *et al.*, 2009; Estalles *et al.*, 2011; Massa y Hozbor, 2011; Orlando *et al.*, 2011). En nuestro país, forma parte de la fauna acompañante de otras pesquerías industriales y ocupa el segundo lugar entre las 5 principales especies de rayas desembarcadas en Puerto Quequén (38°37'S - 58°50'O), donde se comercializa o se descarta según su tamaño (Massa *et al.*, 2004; Cedrola *et al.*, 2005; Tamini *et al.*, 2006; Perez Comesaña *et al.*, 2011). Dada la falta de datos biológicos y ecológicos sobre esta especie, sumado al incremento de la intensidad pesquera a la que se encuentra sometida, *A. cyclophora* ha sido catalogada en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN como "vulnerable" (Massa *et al.*, 2006).

En el Distrito Sudbrasileño, *A. cyclophora* se distribuye hasta profundidades máximas de 300 m (Oddone y Vooren, 2004) y alcanza los 68 cm de longitud máxima (Oddone *et al.*, 2008). Su abundancia no presenta fluctuaciones estacionales y completa su ciclo de vida en el área (Oddone y Vooren, 2005; Oddone *et al.*, 2008). La talla de madurez sexual estimada para la región brasileña es cercana a los 53 cm de

longitud total (LT) para las hembras y varía entre 46,3 cm y 48,5 cm LT para los machos (Oddone y Vooren, 2005; Oddone *et al.*, 2008).

En el Distrito Bonaerense, habita principalmente desde la costa hasta profundidades de 130 m (Cousseau *et al.*, 2007). Las estimaciones de talla de madurez realizadas en esta región corresponden al Golfo San Matías (41°S - 42°S), donde la especie alcanza los 69 cm de longitud máxima, con una talla de madurez que varía entre 53 y 54 cm LT para los machos y entre 56,7 y 59 cm LT para las hembras (Estalles *et al.*, 2011; Bernasconi, 2018). En la zona de Puerto Quequén (38°37'S - 58°50'O), entre los 30 y 40 m de profundidad, los resultados de muestreos mensuales de desembarque evidencian que la especie desarrolla su ciclo de vida en el área. Sin embargo, no existe información sobre las variables reproductivas, ciclo reproductivo y patrón de distribución de esta especie para la región bonaerense (entre 34°S y 42°S).

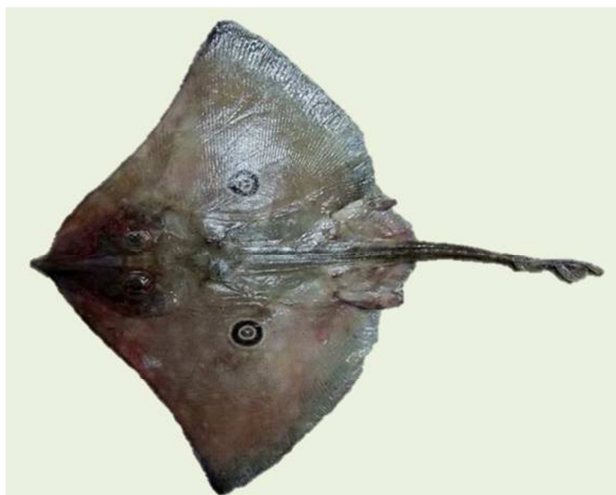


Figura 1.2. Ejemplar adulto hembra de *Atlantoraja cyclophora*

Objetivo general e hipótesis de trabajo

Por lo expuesto, el objetivo principal de este trabajo es contribuir al conocimiento de la estrategia reproductiva de *A. cyclophora* en el área costera bonaerense. Se busca describir la morfología de los órganos reproductores a partir del estudio macroscópico e histológico de sus gónadas, estimar parámetros reproductivos de importancia pesquera, analizar el mecanismo de puesta y determinar las zonas de concentración y cría principales de la especie.

Se plantea como hipótesis general que en la región costera bonaerense *A. cyclophora* presenta un ciclo reproductivo anual, con un pico de mayor actividad en primavera. Se trataría de una especie con una etapa juvenil relativamente extensa, por lo que debería considerarse un recurso sumamente sensible a la actividad pesquera.

CAPÍTULO 2

Materiales y Métodos

Descripción del área de estudio

El área de estudio abarcó la región costera (inferior a 50 m de profundidad) del Océano Atlántico Sudoccidental entre los 34° y 42° de latitud sur (con excepción del Golfo San Matías) (Figura 2.1), que corresponde al Distrito Bonaerense de la Provincia Zoogeográfica Templada del Atlántico Sudoccidental (Menni y Stehmann, 2000; Menni *et al.*, 2010).

En esta región, se identifican tres sistemas oceanográficos: dos ambientes estuarinos de baja profundidad (menor a 50 m), uno generado por la descarga del Río de la Plata y otro por la de los ríos Negro y Colorado y un área de plataforma continental media de mayor profundidad (mayor a 50 m) (Guerrero, 1998; Lucas *et al.*, 2005). Estos ambientes definen frentes térmicos y salinos que influyen en la distribución de agregaciones reproductivas de las especies costeras, así como también en sus áreas de desove y cría (Guerrero, 1998; Macchi y Acha, 1998; Acha *et al.*, 2004; 2015).

El estuario generado por la descarga del Río de la Plata presenta un área de 35000 km² de aguas superficiales de baja salinidad (menores a 33 ppm), con un volumen promedio de descarga de 22000 m³/s (Guerrero *et al.*, 1997; Lucas *et al.*, 2005). Los campos de viento y el aporte continental fuerzan los patrones estacionales de la salinidad superficial, mientras que la salinidad del fondo es controlada por la batimetría (Guerrero *et al.*, 1997; Jaureguizar *et al.*, 2006). Durante el período de primavera-verano, los vientos predominantes de tierra desplazan el agua dulce hacia el sur, a lo largo de la costa argentina. Como consecuencia de ello, las aguas de la plataforma penetran en el estuario hasta Punta del Este (Uruguay). En el período de otoño-invierno, en cambio, el equilibrio entre los vientos de tierra y mar adentro desplazan las aguas estuarinas hacia el noroeste, a lo largo de la costa uruguaya (Guerrero *et al.*, 1997). El rango de temperatura de fondo en verano está comprendido entre 21 y 22°C, mientras que en invierno el intervalo está entre los 10 y 12°C (Guerrero *et al.*, 1997).

La descarga combinada de los ríos Negro y Colorado (más de 1000 m³/s) conforman el sistema costero de “El Rincón” (Guerrero y Piola, 1997; Guerrero, 1998), cuyo régimen estuarino varía, abarcando un área entre 10000 km² (período otoño-invierno) y 15000 km² (pleno invierno) (Lucas *et al.*, 2005). Este sistema se caracteriza

por presentar un área de máximos relativos de salinidad por fuera del litoral costero (entre 33,7 y 34,1 ppm) y un área con un mínimo relativo de salinidad (menor a 30,0 - 33,3 ppm) paralela a la costa, entre la boca del río Negro (41°S) y Bahía Blanca (39°S) (Guerrero y Piola 1997; Lucas *et al.*, 2005). La alta salinidad de El Rincón es consecuencia de un exceso de evaporación local provocada por una temperatura superficial mayor, que se suma al efecto de una circulación más restringida en el área, así como al aporte de aguas de máxima salinidad del Golfo San Matías (Guerrero y Piola, 1997). El rango de temperaturas en el área, para profundidades entre 10 y 18 m, es de 14 - 16°C en primavera y de 7 - 8°C en invierno (Lucas *et al.*, 2005).

El agua de la plataforma continental media (salinidades entre 33,5 y 33,7 ppm) es generada por la entrada de aguas subantárticas (Lucas *et al.*, 2005). En su límite más septentrional, la capa superficial se mezcla con las aguas del estuario del Río de la Plata y ocupa la porción central de la plataforma hasta su intersección con la costa, entre 38° 30'S y 37° 30'S (entre Necochea y Mar del Plata) (Lucas *et al.*, 2005; Jaureguizar *et al.*, 2006). Dicha intersección resulta de la proximidad de la isobata de 50 m hacia la costa y de la ausencia de un aporte de agua local desde la costa (Jaureguizar *et al.*, 2006). La distribución de la temperatura media de fondo entre noviembre y marzo presenta un gradiente horizontal a lo largo de la costa; entre 10 y 11°C al sur de los 38°S y entre 11 y 13°C desde los 38°S hasta los 37°S.

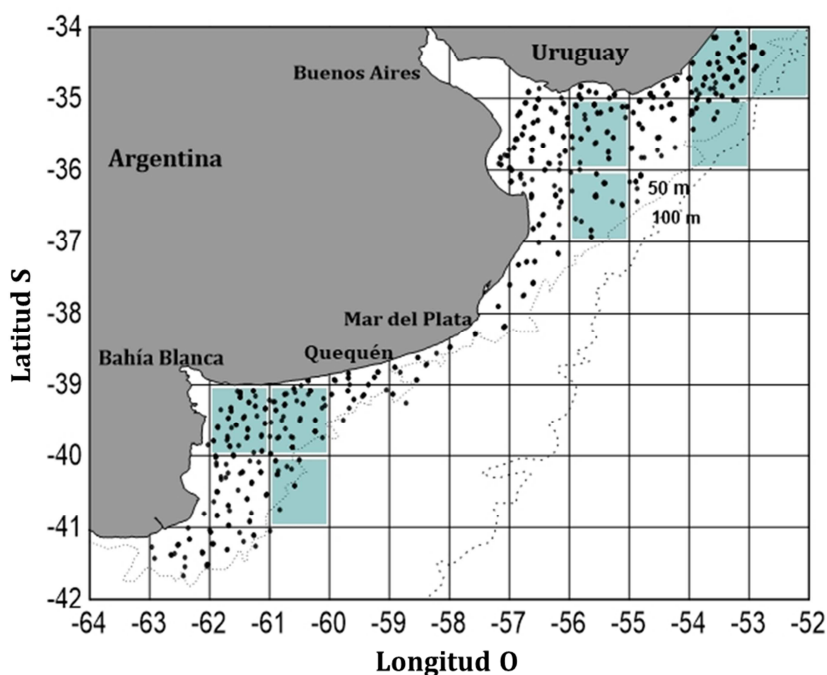


Figura 2.1. Mapa del área de estudio con los lances de pesca (puntos oscuros) realizados en las campañas de investigación y el área correspondiente a la captura comercial (rectángulos estadísticos coloreados de 1 grado por 1 grado), donde se recolectó *Atlantoraja cyclophora*.

Obtención de las muestras

Para el estudio de los parámetros reproductivos de *A. cyclophora* se analizaron un total 974 ejemplares, 488 machos y 486 hembras (Figuras 2.2 y 2.3), provenientes de campañas de investigación llevadas a cabo en el área costera bonaerense con los buques del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), entre los años 2002 y 2006. También se contó con ejemplares provenientes de la captura comercial, adquiridos mensualmente por el INIDEP en el puerto de Mar del Plata, durante los años 2006 y 2007 (véase *Tabla 4.1, Cap. 4: Estimación de parámetros reproductivos de A. cyclophora, pág. 56*). Para el análisis de los patrones de distribución y abundancia de la especie, se trabajó con la información procedente de cuatro campañas de investigación llevadas a cabo por el INIDEP, entre los años 2003 y 2006 (véase *Tabla 5.1, Cap. 5: Distribución espacial y abundancia de A. cyclophora en relación con las características ambientales, pág. 74*).

Durante cada campaña de investigación se realizaron estaciones de muestreo a profundidades menores a 50 m. Las capturas se obtuvieron mediante lances de pesca efectuados con una red de arrastre de fondo tipo ENGEL (120 mm de tamaño de malla, con una altura vertical de 5 m y una abertura horizontal de 20 m), a velocidad constante de 4 nudos (7,41 km/h) durante 15 minutos. En cada estación de muestreo se determinó la profundidad, temperatura y salinidad del mar mediante un sensor de conductividad, profundidad y temperatura (CTD, Sea-Bird Electronics Inc.).

Luego de separar y pesar el total de la captura por especie en cada lance de pesca, se seleccionaron los ejemplares de *A. cyclophora* y se conservaron en una cámara de frío a -20°C para su posterior procesamiento en el laboratorio.

El material de desembarque provino de buques pesqueros costeros, que operan en el área de estudio y desembarcan en el Puerto de Mar del Plata. Para estas capturas se utilizaron redes de arrastre de fondo de 120 mm de tamaño de malla, con longitud variable dependiendo de la embarcación. El posicionamiento de las capturas se obtuvo mediante datos de latitud y longitud, que indican el extremo superior derecho del cuadrante de pesca. En este caso, los ejemplares se mantuvieron en cámara frigorífica hasta su procesamiento.

Para el estudio histológico y microanatómico del sistema reproductor de los individuos, se analizaron 27 ejemplares, 13 machos y 14 hembras, provenientes del desembarque comercial en Puerto Quequén, en mayo de 2015 y de una campaña de investigación realizada por el INIDEP, en noviembre de 2016.

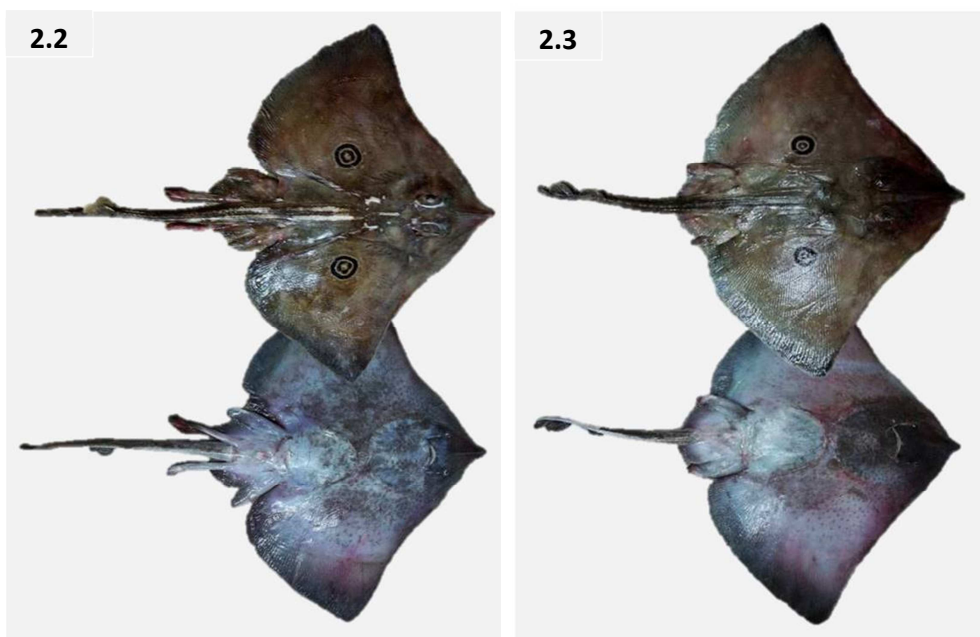


Figura 2. Vista dorsal y ventral de ejemplares adultos de *Atlantoraja cyclophora*. **2.2.** Macho. **2.3.** Hembra.

Metodología

En tierra, luego de descongelar el material recolectado, se registró para cada individuo, el sexo, la longitud total (LT) tomada desde el hocico hasta la aleta caudal, el ancho de disco (AD) tomado entre los extremos laterales de las aletas pectorales, el peso total (PT) sin eviscerar y el peso del hígado (PH). A cada ejemplar se le asignó un estadio de madurez sexual, mediante el análisis macroscópico de los órganos sexuales internos y externos. Inicialmente, se le asignó un estadio de madurez a cada órgano por separado y luego un estadio general a cada ejemplar. Para ello se utilizó la escala de madurez sexual propuesta por Colonello *et al* (2007a), adaptada para especies ovíparas (Tabla 2.1). En los machos, se registró el largo interno de los *claspers* (LCint), a partir de la zona distal de la cloaca; el número de filas de espinas alares (Esp) y el peso de los testículos (PG). En las hembras se registró el peso de los ovarios (PO), el ancho de las glándulas oviductales (AGO) y de los úteros (AU), con excepción de las hembras con cápsulas coriáceas alojadas en los úteros (hembras grávidas), debido a la dilatación que producen las mismas. En las hembras adultas se registró el diámetro máximo de los folículos ováricos (DMF) y, en las grávidas, el ancho y el largo de las cápsulas completamente formadas en los úteros (excluyendo los cuernos). Todas las

mediciones se realizaron al milímetro inferior y los pesos se registraron con precisión de 1 gr, mediante la utilización de un ictiómetro y una balanza electrónica, respectivamente.

Para el análisis histológico, se recolectaron los órganos sexuales internos de cada individuo y se conservaron en solución de formol al 10% en agua de mar, hasta el momento de su procesamiento. Parte de este material se procesó en el Gabinete de Ecología Reproductiva de Organismos Marinos del INIDEP y posteriormente se continuó el procesamiento en el laboratorio de Citología, Histología y Embriología Animal, de la Universidad Nacional del Sur (Bahía Blanca) (Figuras 2.4 a 2.7).

De cada órgano reproductivo, se obtuvieron piezas de 0,5 - 1 cm de espesor y se procesaron según técnicas histológicas de rutina. Se realizó la deshidratación en una serie alcohólica (etanol) de concentración creciente (70°, 80°, 90° y 96°) a temperatura ambiente, durante 2 a 3 horas en cada uno, dependiendo del tamaño de las piezas. Posteriormente se mantuvieron en una mezcla 1:1 de alcohol etílico absoluto y N-butanol, durante 2 a 3 horas y en N-butanol 100% durante una noche. Luego las piezas fueron infiltradas en una mezcla de N-butanol (5%) y Paraplast® durante 2 a 3 horas, seguido de dos baños de Paraplast® puro de 2 horas cada uno. Todos estos pasos se realizaron en estufa a temperatura constante (60°C). Finalmente, se incluyeron en Paraplast® en anillos plásticos.

Los cortes histológicos se realizaron entre 3 y 5 μ m, con un micrótomos rotatorio Leica RM 2145 y se colorearon con Tricrómico de Masson y Hematoxilina-Eosina. También se emplearon las siguientes técnicas histoquímicas: reacción del ácido periódico de Schiff (PAS) (Mc Manus, 1946; Hotchkiss, 1948), para la detección de glucoproteínas ácidas y neutras y la técnica de Azul Alcian (AB) a pH 2,5 (Steedman, 1950; Mowry, 1956), para la detección de glucoproteínas ácidas. Los cortes histológicos coloreados se observaron con un microscopio óptico Nikon AFM. Los registros fotográficos se realizaron con un microscopio óptico Olympus BX5, equipado con una cámara digital Olympus Camedia Mod. C-7070, Wide Zoom.

Tabla 2.1 Criterios morfológicos utilizados para determinar macroscópicamente el estadio de madurez sexual de machos y hembras de *Atlantoraja cyclophora*. Criterios adaptados de Colonello *et al* (2007a).

Estadio		Machos	Hembras
		Características macroscópicas	
Juvenil	1	Testículos poco desarrollados, escasas vesículas espermáticas apenas visibles y órgano epigonal abundante. Conductos espermáticos delgados adheridos a la pared dorsal de la cavidad abdominal. <i>Claspers</i> sin calcificar, no sobrepasan las aletas pélvicas.	Ovarios sin ovocitos visibles a simple vista. Glándulas oviductales indiferenciadas. Úteros delgados y completamente adheridos a la pared dorsal de la cavidad abdominal.
	2	Testículos en maduración con vesículas espermáticas desarrolladas y órgano epigonal abundante entre éstas. Conductos espermáticos poco enrollados, glándulas anexas sin desarrollar. <i>Claspers</i> sin calcificar, sobrepasan las aletas pélvicas.	Ovarios con ovocitos pre-vitelogénicos transparentes y de mayor tamaño. Glándulas oviductales diferenciadas, sin desarrollar completamente. Úteros con mayor tamaño en la porción próxima a las glándulas oviductales.
Adulto	3	Testículos con vesículas espermáticas y órgano epigonal escaso entre éstas. Conductos espermáticos contorneados con glándulas anexas desarrolladas. <i>Claspers</i> calcificados, sobrepasan las aletas pélvicas.	Ovarios con ovocitos vitelados de diferente tamaño, sin distinguir una camada en particular. Glándulas oviductales completamente formadas. Úteros ensanchados, de paredes delgadas.
	4		Ovarios con ovocitos vitelados de diferente tamaño, sin distinguir una camada de mayor tamaño. Glándulas oviductales de mayor tamaño e irrigadas. Úteros dilatados con cápsulas coriáceas total o parcialmente desarrolladas en su interior.



Figura 2.4. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP).

Figura 2.5. Universidad Nacional del Sur (UNS).

Figura 2.6. Procesamiento del material en instalaciones del INIDEP.

Figura 2.7. Procesamiento del material en instalaciones de la UNS.

CAPÍTULO 3

Morfología de los órganos reproductivos de *Atlantoraja cyclophora*

Introducción

Los Condrictios poseen un sistema reproductivo complejo y elaborado, que les posibilita una amplia gama de estrategias reproductivas (véase *Cap.1: Introducción general*).

El desarrollo embrionario de las gónadas ocurre a partir de masas pares de tejido mesodérmico que se ubican a cada lado del mesenterio dorsal, de la cavidad peritoneal. Estas crestas genitales indiferenciadas, son pobladas por células germinales primordiales, provenientes del endodermo del saco vitelino, que posteriormente darán lugar a las espermatogonias y las ovogonias (Wourms, 1977; Hamlett, 1999; McMillan, 2007).

Al igual que en la mayoría de los vertebrados, el tejido somático de los ovarios y testículos se origina a partir de dos fuentes mesenquimales distintas. La corteza deriva de la proliferación del epitelio celómico y está destinada a convertirse en un ovario, en tanto que la medula proviene de una proliferación celular más medial y forma el testículo (McMillan, 2007). Los conductos, por su parte, proveen los medios para transportar las gametas al exterior. Éstos derivan de dos conjuntos de conductos urogenitales, de los cuales solo uno tendrá función reproductiva. En los machos, el conducto funcional es el mesonéfrico o conducto de Wolff y, en las hembras, es el conducto de Müller (Wourms, 1977). Posteriormente, originarán los conductos espermáticos y los oviductos.

Sistema reproductor masculino

Consta de un par de órganos copuladores externos, llamados *claspers* o mixopterigios, que son modificaciones de la base de las aletas pélvicas. Estos órganos secundarios, junto con el sifón (en Selacios) o la glándula del *clasper* (en Batoideos), participan en la transferencia del esperma al sistema genital de la hembra (Conrath, 2005). Los órganos internos incluyen: testículos y conductos genitales pares (conductos eferentes, conducto epididimario o epidídimo y conducto deferente) y glándulas anexas (vesícula seminal, glándula de Leydig y glándula alcalina, esta última solo presente en las rayas) (Wourms, 1977; Hamlett, 1999; Walker, 2005).

Los testículos de los Condrictios son simétricos y se encuentran suspendidos de la pared corporal por el mesorquio. En el caso de las rayas, se presentan alargados y aplanados dorsoventralmente. Estos órganos ejercen una doble función; la producción de gametas (espermatogénesis y espermiogénesis) y la síntesis y secreción de hormonas sexuales (esteroidogénesis) (Hamlett, 1999). Los conductos genitales son tubulares y se encuentran incluidos en la pared corporal dorsal, recubriendo los riñones (Hamlett, 1999; Walker, 2005). En la vesícula seminal ocurre el almacenamiento y maduración del espermatozoide y en algunas especies, la formación de agregados espermáticos. La glándula de Leydig, se asocia al segmento anterior del epidídimo y a parte del conducto deferente. Se localiza en la parte anterior del riñón y es responsable de secretar el fluido seminal. La glándula alcalina, se encuentra cercana a la vesícula seminal y su función es producir secreciones alcalinas, que participan en la agregación espermática (Hamlett, 1999; Carrier *et al.*, 2004).

Sistema reproductor femenino

Consiste en ovarios y oviductos, generalmente pares. Cada oviducto se origina como un tubo simple que se diferencia en cuatro regiones, *ostium*-oviducto anterior, glándula oviductal, istmo y útero. Este último desemboca en un seno urogenital único (Wourms, 1977; Walker, 2005). La organización de estas estructuras es sumamente variable, debido a la diversidad de modos reproductivos presentes en el clado. Aunque los ovarios y oviductos inician su desarrollo como estructuras pares, en algunos elasmobranquios dichos órganos pueden presentarse asimétricos en la madurez sexual (Metten, 1939; Dodd, 1983; Hamlett y Koob, 1999). En batoides ovíparos, la simetría ovárica persiste durante toda la vida y ambos órganos funcionan sincrónicamente (Wourms, 1977; Hamlett y Koob, 1999).

Los ovarios se hallan unidos a la pared antero dorsal de la cavidad corporal por el mesenterio (mesovario), a ambos lados de la columna vertebral. La forma y estructura del ovario es variable, pudiendo ser alargado en tiburones y algunas rayas o algo más circular, en otras.

El *ostium*, se diferencia en el extremo anterior del oviducto y recolecta los óvulos. En la mayoría de los condrictios, los ovocitos son liberados a la cavidad corporal (Wourms, 1977) y capturados por el *ostium*, pasan luego al oviducto anterior, que los conduce hacia la glándula oviductal. Esta glándula suele estar poco desarrollada en condrictios vivíparos, o ser vestigial. En cambio, en los animales ovíparos, está bien representada (Hamlett *et al.*, 1998; Díaz Andrade, 2010; Serra Pereira *et al.*, 2011a; Moya, 2016). Su función principal es la síntesis y secreción de proteínas globulares albuminoides y glucoproteínas diversas, así como de las proteínas que formarán la cápsula de huevo. Asimismo, en algunas especies, funciona como sitio de almacenamiento de espermatozoides (Hamlett *et al.*, 1998; 1999a; Storrie *et al.*, 2008). La región posterior del oviducto se expande en un útero, cuya función principal consiste en alojar y proteger a los huevos encapsulados o a los embriones en desarrollo. Este

órgano está muy desarrollado en especies vivíparas y, entre sus funciones, se encuentran la regulación del medio intrauterino, la eliminación de los residuos embrionarios y la provisión de oxígeno y nutrientes a los embriones, entre otras (Koob y Hamlett, 1998).

Todos los elasmobranquios presentan una asociación única entre las gónadas y el órgano epigonal. El mismo es una estructura linfomieloide, responsable de gran parte de la linfopoiesis y granulopoyesis. Dado que los Condrictios carecen de médula ósea (Miracle *et al.*, 2001; Bircan-Yildirim *et al.*, 2011), la hemopoyesis es llevada a cabo por diversas estructuras, tales como el bazo y el órgano de Leydig (Galíndez y Aggio, 1997). El órgano epigonal de estas especies es partícipe tanto de la producción de células inmunocompetentes, como de la modulación de la respuesta inmune y de las actividades reproductivas (Lutton y Callard, 2008).

Los objetivos del presente capítulo fueron:

- analizar las características morfológicas e histológicas de los órganos sexuales internos de individuos adultos de *A. cyclophora*;
- estudiar el desarrollo de la espermatogénesis y ovogénesis.

Metodología

Para el estudio histológico de los órganos reproductivos se analizaron 27 individuos juveniles y adultos. Los órganos genitales de los ejemplares adultos se extrajeron completos (Figuras 3.1 y 3.2) y se fijaron en formol al 10%. Posteriormente, se tomaron muestras de cada uno de ellos, para su procesamiento histológico. La metodología se encuentra detallada en el capítulo 2 (Materiales y Métodos).

Mediante el estudio microscópico de los órganos reproductivos, se analizó la espermatogénesis y ovogénesis. También, se estudiaron secciones transversales de las distintas regiones de los conductos espermáticos y de los oviductos.

Para el estudio de la espermatogénesis, se realizaron cortes transversales mediales en cada testículo con el fin de seleccionar una porción representativa de un lóbulo espermático completo (Maruska *et al.*, 1996). Se corroboró microscópicamente el estadio de madurez sexual asignado a cada órgano, detectando la presencia de cistos con espermatozoides y la presencia de esperma en los conductos espermáticos.

Para el estudio de la ovogénesis, se seleccionaron diferentes porciones de la pared ovárica y se registró la talla microscópica de inicio de vitelogénesis (talla mínima folicular en la que se evidencia la acumulación de vitelo en el citoplasma del ovocito). En hembras grávidas, se registró la presencia de cápsulas en proceso de formación y se extrajeron las que se encontraban ya completas, para su descripción (Figuras 3.3a, 3.3b y 3.4).

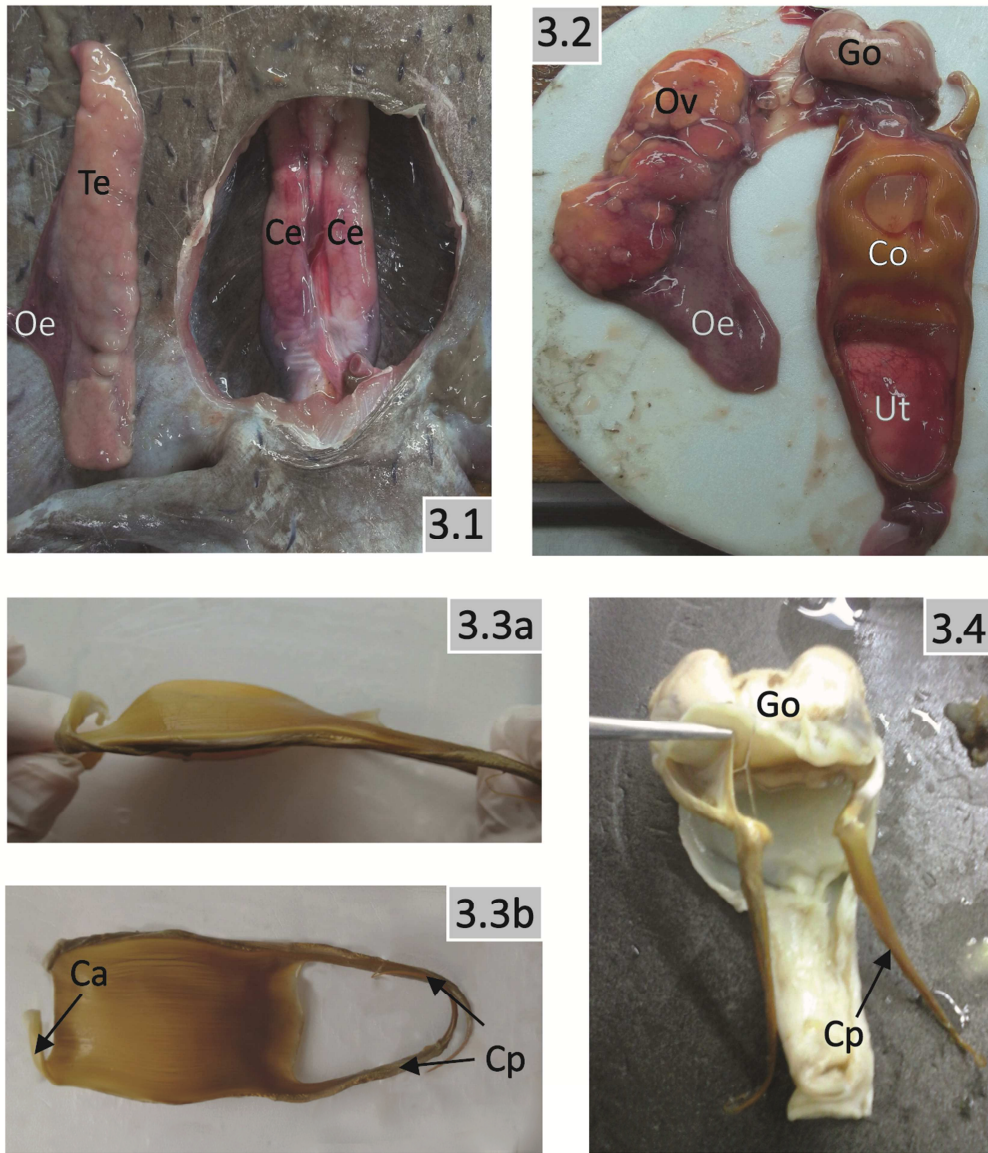


Figura 3.1. Sistema reproductor masculino de *Atlantoraja cyclophora*.

Figura 3.2. Sistema reproductor femenino de *Atlantoraja cyclophora*.

Figura 3.3. Cápsulas de *Atlantoraja cyclophora*. **(a)** Vista lateral. **(b)** Vista dorsal.

Figura 3.4. Detalle de una cápsula coriácea en formación.

Referencias: Ca: cuernos anteriores; Ce: conductos espermáticos; Co: cápsula coriácea; Cp: cuernos posteriores; Go: glándula oviductal; Oe: órgano epigonal; Ov: ovario; Te: testículo; Ut: útero.

Resultados

Sistema reproductor masculino

Testículo

Macroscópicamente, los testículos son órganos alargados, comprimidos dorsoventralmente e igualmente desarrollados. Ambos, se encuentran sobre el estroma del órgano epigonal, el cual está desplazado hacia los laterales de la gónada (Figura 3.5). Sobre la superficie dorsal del testículo, se observan los lóbulos espermáticos.

Histológicamente se observó que los testículos se encuentran recubiertos por una túnica delgada de tejido conectivo denso (túnica albugínea), que emite trabéculas hacia el interior delimitando los lóbulos espermáticos (Figuras 3.6a y 3.6b). Superficialmente, esta túnica está revestida por epitelio simple cúbico, que se aplana en las zonas donde se proyectan las papilas germinales (Figuras 3.6b y 3.6c). Las mismas, surgen como eminencias del estroma testicular, entre el epitelio y la túnica albugínea. En ellas se ubican células germinales indiferenciadas y espermatogonias, que se asocian a precursores de células somáticas (análogas a las células de Sertoli) y originan los espermatocistos (cistos) (Figuras 3.6c y 3.6d). La proliferación ventral de este linaje germinativo, origina la formación de los lóbulos espermáticos. En cada uno de ellos suceden las diferentes fases de la espermatogénesis y espermiogénesis, que se describen a continuación.

Espermatogénesis y espermiogénesis

Los espermatocistos o cistos constituyen la unidad funcional y estructural del testículo. Se observó que la maduración del cisto sucede radialmente, desde la zona germinal hacia la periferia del lóbulo y diametralmente hacia la parte ventral del órgano (Figura 3.6a). Esta onda madurativa, resulta en una zonación visible dentro de cada lóbulo, con regiones cuyos cistos presentan células en la misma etapa de desarrollo.

En base a las características citológicas y estructurales de los cistos, se identificaron siete estadios madurativos, que definen tres etapas de la espermatogénesis: premeiótica, meiótica y posmeiótica.

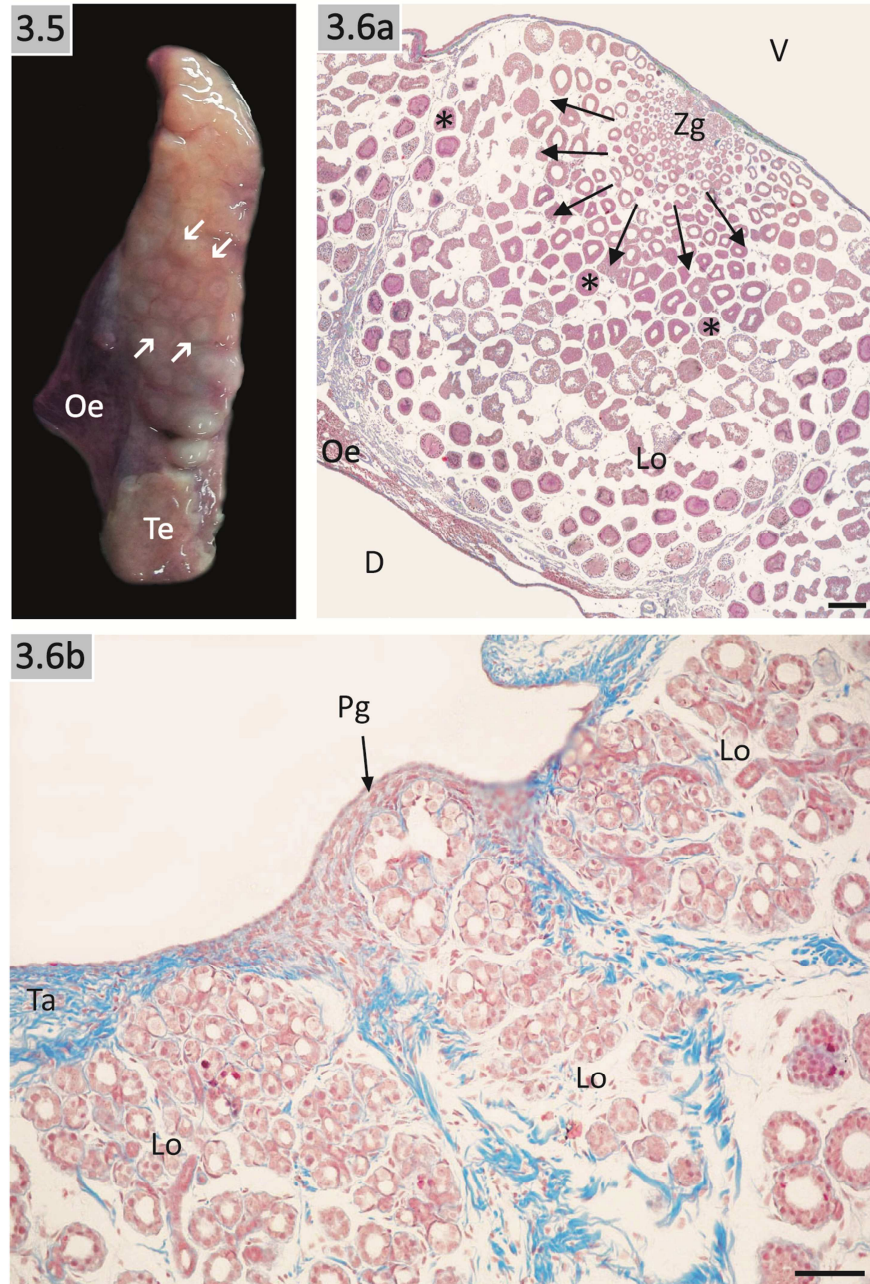


Figura 3.5. Superficie dorsal del testículo de un individuo adulto de *Atlantoraja cyclophora*, cubierto por lóbulos espermáticos (flechas).

Figura 3.6. (a) Corte transversal del testículo donde se observa un lóbulo espermático completo. Las flechas indican la dirección de la maduración de los cistos. Ref: 275 μm .

(b) Papila germinal y formación de los lóbulos espermáticos. Ref: 70 μm .

Referencias: *: cistos espermáticos; D: dorsal; Lo: lóbulo espermático; Oe: órgano epigonal; Pg: papila germinal; Ta: túnica albugínea; Te: testículo; V: ventral; Zg: zona germinal.

Coloración: Tricrómico de Masson.

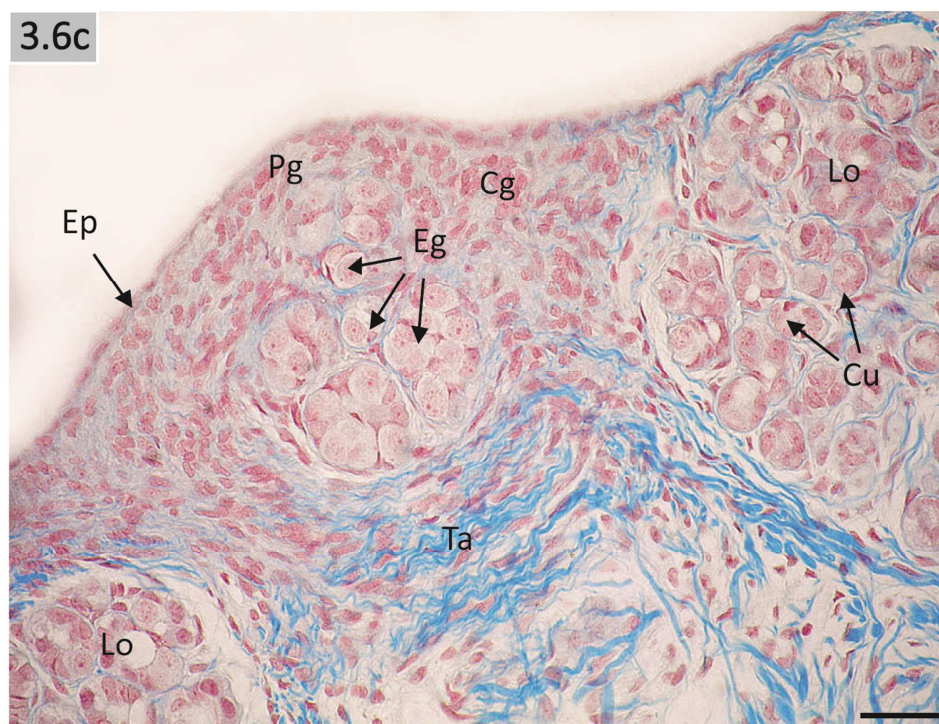


Figura 3.6. (c) Detalle de una papila germinal con células germinales indiferenciadas y espermatogonias. Ref: 27,5 μ m.

Referencias: Cg: células germinales indiferenciadas; Cu: cistos unilaminares; Eg: espermatogonias; Ep: epitelio testicular; Lo: lóbulo espermático; Pg: papila germinal; Ta: túnica albugínea.

Coloración: Tricrómico de Masson.

Fase premeiótica o proliferativa

El inicio del proceso de espermatogénesis ocurre en la zona germinal (estadio I). Allí, se encuentran las espermatogonias, que se distinguen por una alta relación núcleo-citoplasma y las células de Sertoli, con núcleo oval y heterocromático (Figura 3.6d).

Por fuera de la zona germinal, las espermatogonias y las células de Sertoli se organizan dando lugar a cistos unilaminares (estadio II), con una monocapa de epitelio germinal envuelto por una membrana basal. Estos cistos presentan un lumen pequeño (Figuras 3.6c y 3.7).

Al avanzar la espermatogénesis, el epitelio se estratifica, dando lugar a cistos de mayor diámetro, multilaminares, en los cuales las espermatogonias proliferan, empujando los núcleos de las células de Sertoli hacia el lumen (Figura 3.8a). Posteriormente, las espermatogonias no solo aumentan en número, sino que se disponen hacia el lumen y los núcleos de las células de Sertoli se reubican basalmente (Figura 3.8b).

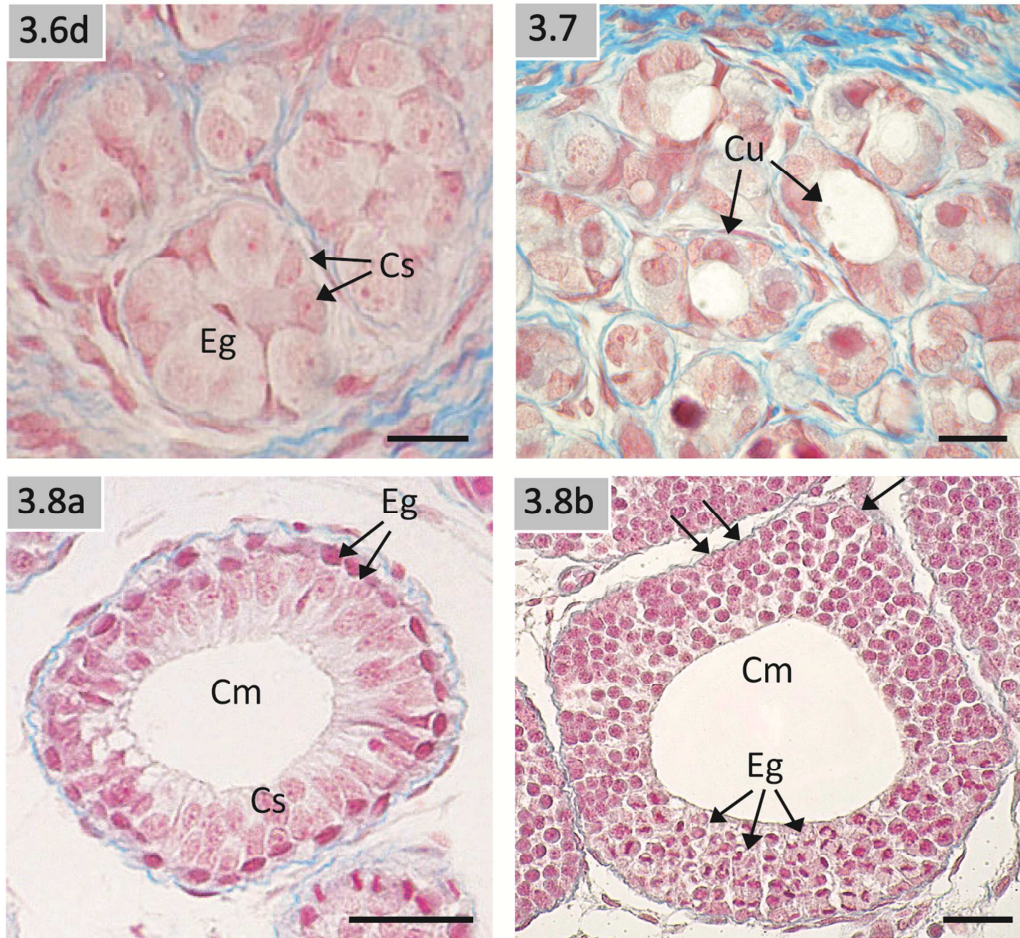


Figura 3.6. (d) Detalle de los cistos con espermatogonias y células de Sertoli. Ref: 27,5 μm .

Figura 3.7. Detalle de cistos unilaminares. Ref: 27,5 μm .

Figura 3.8. (a) Cisto multilaminar donde se observa la disposición de las espermatogonias y los núcleos de las células de Sertoli. Ref: 4,5 μm . **(b)** Cisto multilaminar avanzado, donde puede observarse el inicio de la onda de la división mitótica de las espermatogonias y los núcleos de las células de Sertoli ubicados sobre la membrana basal (flechas). Ref: 30 μm .

Referencias: Cm: cisto multilaminar; Cs: núcleos de las células de Sertoli; Cu: cistos unilaminares; Eg: espermatogonias.

Coloración: Tricrómico de Masson.

Fase meiótica

La espermatogénesis culmina con el proceso de formación de los espermatocitos (estadio III). Las espermatogonias se multiplican y se diferencian los espermatocitos primarios, células de núcleos grandes, esféricos y heterocromáticos (Figura 3.9). Estas células completan la primera división meiótica y dan lugar a los espermatocitos

secundarios, distinguibles por sus núcleos pequeños, fuertemente heterocromáticos (Figura 3.10). Esta etapa finaliza con la segunda división meiótica, originando células haploides, las espermatídes.

Fase posmeiótica o madurativa

Esta etapa consiste en la maduración de las espermatídes a espermatozoides (espermiogénesis). Se pudieron identificar 3 etapas diferentes, que se reconocen por la presencia de:

- a) cistos con espermatídes en distinto grado de desarrollo (estadio IV),
- b) cistos con espermatozoides inmaduros (estadio V) y
- c) cistos con espermatozoides maduros (estadio VI).

Las espermatídes se agrupan en manojos laxos y desorganizados, con los núcleos fuertemente heterocromáticos, ubicados hacia la membrana basal cística y los esbozos flagelares hacia el lumen (Figura 3.11). Esta orientación se mantiene hacia el final de la espermiogénesis. Los espermatozoides inmaduros se reconocen por una mayor condensación de la cromatina y se diferencian la cabeza, el cuello y la cola. Las cabezas se encuentran inmersas en el citoplasma apical de las células de Sertoli (Figuras 3.12a y 3.12b). Los espermatozoides maduros, se distinguen por su organización en paquetes espermáticos compactos. En algunos cistos se observó la presencia de cuerpos acidófilos, de coloración celeste, asociados a dichos paquetes de espermatozoides maduros (Figuras 3.13 y 3.14).

La espermiogénesis es seguida de una fase degenerativa del cisto, luego de la evacuación de los espermatozoides y fragmentos de células de Sertoli hacia los conductos intratesticulares. Estos cistos presentan restos de espermatozoides y células de Sertoli en degeneración (Figuras 3.15a y 3.15b).

Dispersas en el espacio intersticial del testículo, se observaron células con características similares a las células de Leydig. Las mismas presentan escaso citoplasma acidófilo y núcleos grandes heterocromáticos (Figura 3.14).

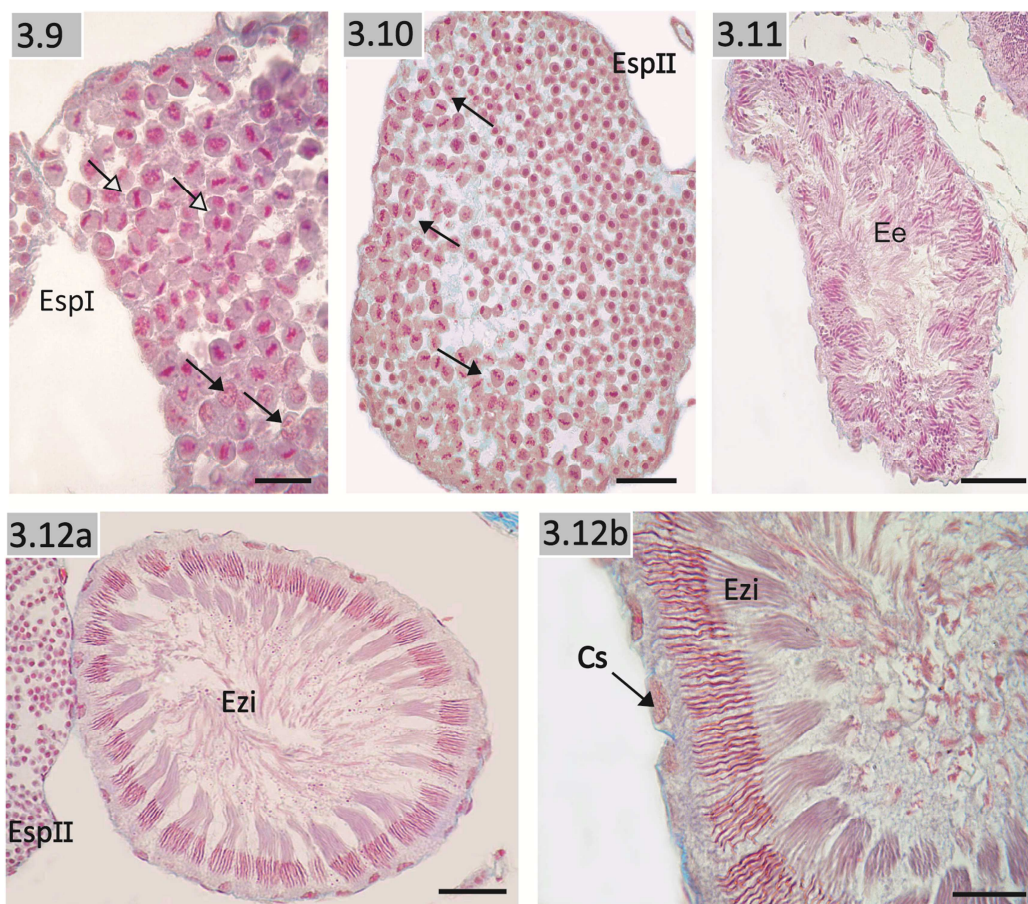


Figura 3.9. Detalle de un cisto con espermatocitos primarios. Se pueden observar células con núcleos grandes, esféricos, levemente heterocromáticos (flechas negras) y células con núcleos más pequeños fuertemente heterocromáticos, producto de la división meiótica (flechas blancas). *Ref:* 4 μm .

Figura 3.10. Cisto con espermatocitos secundarios y células en diferentes fases de la división meiótica (flechas). *Ref:* 30 μm .

Figura 3.11. Cisto con espermatides. *Ref:* 30 μm .

Figura 3.12. (a) Cisto con espermatozoides inmaduros. *Ref:* 50 μm . **(b)** Detalle de los espermatozoides inmaduros agrupados en manojos laxos. Se puede observar las cabezas de coloración más oscura, asociadas a las células de Sertoli. *Ref:* 25 μm .

Referencias: Cs: núcleos de las células de Sertoli; Ee: cisto con espermatides; EspI: espermatocito primario; EspII: espermatocito secundario; Ezi: espermatozoides inmaduros.

Coloración: Tricrómico de Masson.

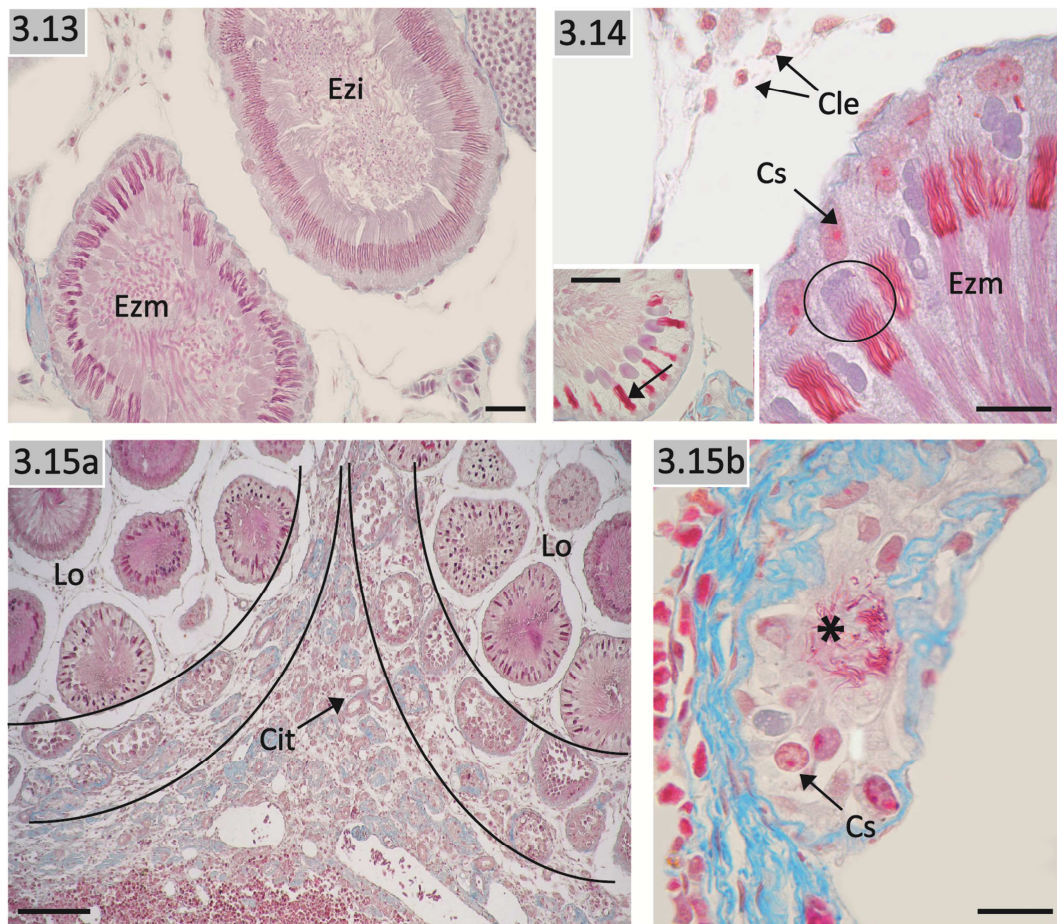


Figura 3.13. Cistos con espermatozoides inmaduros y maduros. Ref: 100 μm .

Figura 3.14. Detalle de un cisto con espermatozoides maduros organizados en paquetes compactos, algunos asociados a cuerpos de coloración celeste (circulo). Ref: 25 μm . En la esquina inferior izquierda se muestra los espermatozoides maduros en su máximo grado de compactación (flecha). Ref: 12,5 μm .

Figura 3.15. (a) Vista general de la zona de degeneración de dos lóbulos espermáticos (óvalos). Ref: 100 μm . **(b)** Detalle de un cisto en degeneración con restos de espermatozoides (asterisco) y núcleos de células de Sertoli en su interior. Ref: 25 μm .

Referencias: Cit: conductos intratesticulares; Cle: células de Leydig; Cs: núcleos de las células de Sertoli; Ezi: espermatozoides inmaduros; Ezm: espermatozoides maduros; Lo: lóbulo espermático.

Coloración: Tricrómico de Masson.

Conductos espermáticos

El sistema de conductos de *A. cyclophora* se dispone en sentido anteroposterior y se sitúa dorsalmente, a ambos lados de la columna vertebral. Este sistema, inicia en los conductos intratesticulares, que se extienden hacia los conductos eferentes, los cuales, ya fuera del testículo, están asociados al órgano epigonal (Figuras 3.16 y 3.17).

Por fuera de las gónadas, se puede distinguir macroscópicamente el epidídimo, como una zona de color amarillenta y aspecto convoluto. El conducto deferente, en cambio, es translúcido y enrollado y se ensancha en su extremo distal, formando la vesícula seminal (Figura 3.18). Paralela al epidídimo se encuentra la glándula de Leydig, la cual se prolonga hasta la parte anterior de los conductos deferentes. La parte final del trayecto de los conductos genitales se encuentra asociada al tejido renal (Figura 3.18).

Los conductos intratesticulares se hallan en el estroma testicular, rodeados por una capa delgada de tejido conectivo. Están revestidos por un epitelio de células cúbicas con estereocilios, con núcleos grandes que ocupan gran parte del citoplasma (Figura 3.16).

Los conductos eferentes presentan el mismo revestimiento epitelial y se encuentran inmersos en el órgano epigonal, rodeados por una gruesa capa de tejido conectivo denso, con células musculares lisas aisladas (Figura 3.17).

Mediante cortes transversales del epidídimo y del conducto deferente, se observó que estos órganos están revestidos por un epitelio cilíndrico simple ciliado, que se va plegando hacia la zona caudal. Este revestimiento resultó PAS (-) y AB (+), en ambos casos. El epidídimo, se observa como un conjunto de túbulos que ponen en evidencia su enrollamiento. Morfológicamente se distinguen una zona apical de células cilíndricas altas y una zona distal con epitelio pseudoestratificado. En su interior, se hallaron espermatozoides desagregados y entre estos, cuerpos acidófilos de color anaranjado, todo ello inmerso en una matriz amorfa AB (+) (Figuras 3.19, 3.20a y 3.20b).

El conducto deferente, presenta mayor diámetro respecto del epidídimo. La mucosa de este conducto se encuentra plegada, formando papilas. En esta región, los espermatozoides comienzan a agruparse y adquieren mayor compactamiento (Figura 3.21).

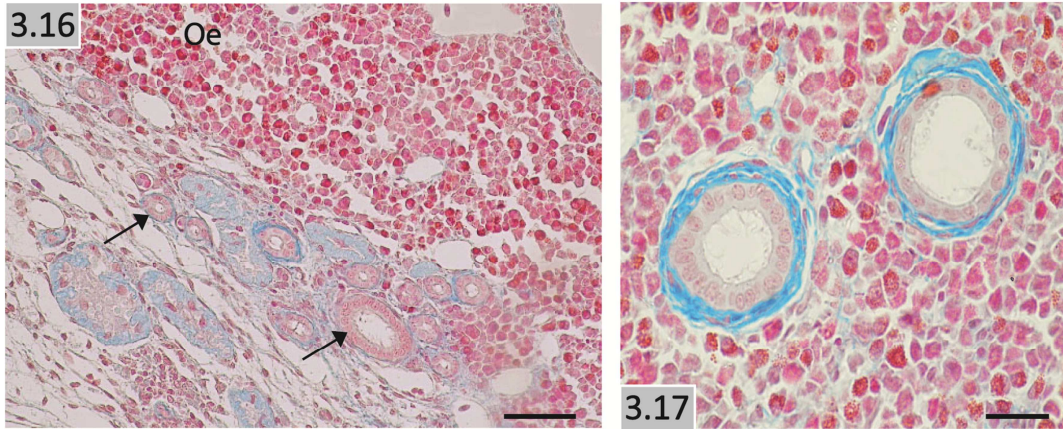


Figura 3.16. Vista general de la zona de degeneración de un lóbulo espermático donde pueden observarse los conductos intratesticulares agrupados, inmersos en tejido conectivo (flechas). Ref: 75 μ m.

Figura 3.17. Conductos eferentes inmersos en el órgano epigonal. Ref: 60 μ m.

Referencias: Oe: órgano epigonal.

Coloración: Tricrómico de Masson.

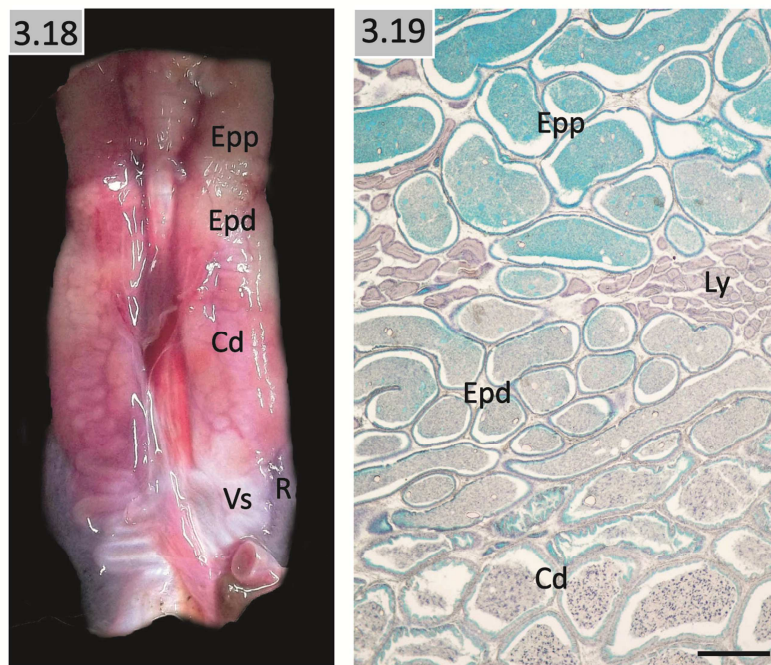


Figura 3.18. Conductos espermáticos de un ejemplar adulto de *Atlantoraja cyclophora*.

Figura 3.19. Corte histológico longitudinal de los conductos espermáticos. Ref: 250 μ m.

Referencias: Cd: conducto deferente; Epd: epidídimo distal; Epp: epidídimo proximal; Ly: glándula de Leydig; R: riñón; Vs: vesícula seminal.

Coloración: Azul alcian.

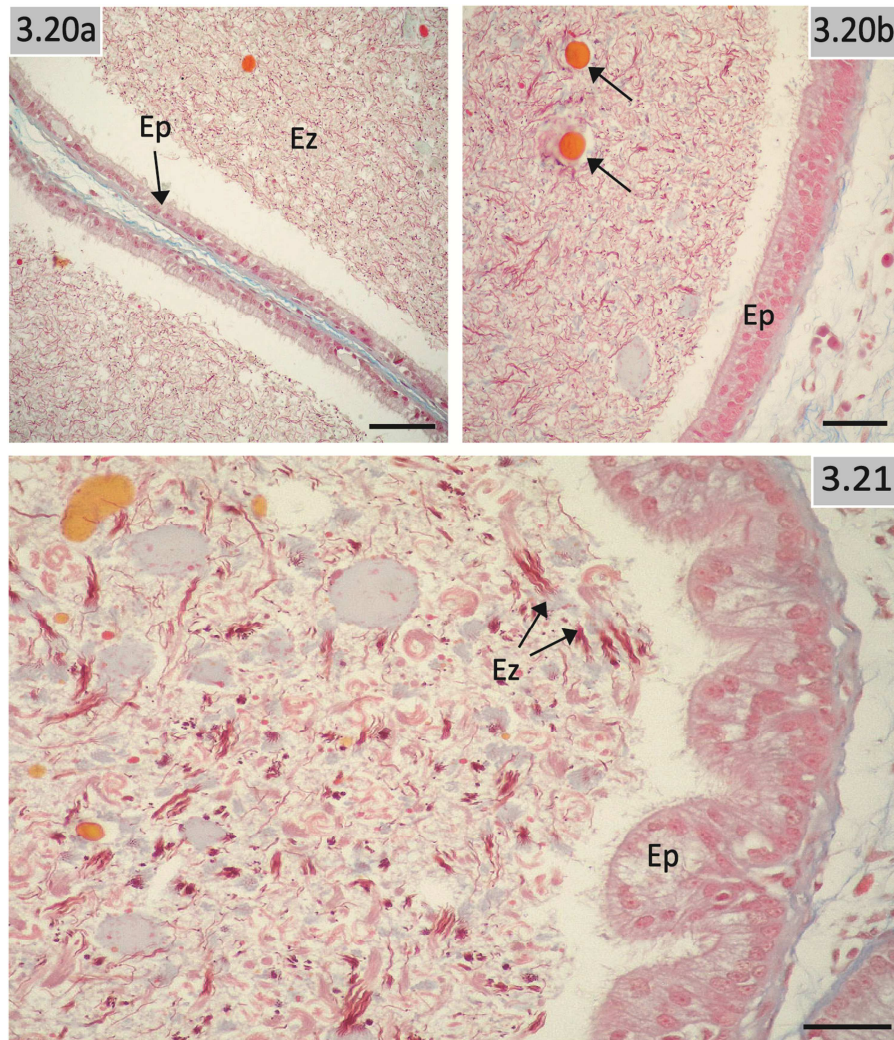


Figura 3.20. Epidídimo. **(a)** Detalle del epidídimo proximal. *Ref: 30 μ m.* **(b)** Detalle del epidídimo distal con espermatozoides desagregados y cuerpos acidófilos (flechas) en el lumen. *Ref: 30 μ m.*

Figura 3.21. Detalle del conducto deferente. *Ref: 30 μ m.*

Referencias: Ep: epitelio; Ez: espermatozoides.

Coloración: Tricrómico de Masson.

Vesícula Seminal

La vesícula seminal se caracteriza por presentar pliegues largos y finos, que forman septos dentro del lumen del conducto (Figuras 3.22a y 3.22b). Los mismos están revestidos por células cilíndricas altas, con cilias de gran longitud (Figura 3.23). En esta región, los espermatozoides se encuentran formando manojos densos, asociados a cuerpos acidófilos de coloración celeste, de aspecto similar a los observados en los cistos con espermatozoides maduros (Figuras 3.14 y 3.24).

Glándula de Leydig

Rodeando al epidídimo y al conducto deferente, se encuentra la glándula de Leydig. Esta glándula tubular, presenta un epitelio cilíndrico simple, con células secretoras de núcleos basales eucromáticos, que alternan con células ciliadas y delgadas, de núcleo apical heterocromático (Figura 3.25). Al igual que en el epidídimo, aquí también se observó reactividad AB (+) en el interior de la glándula.

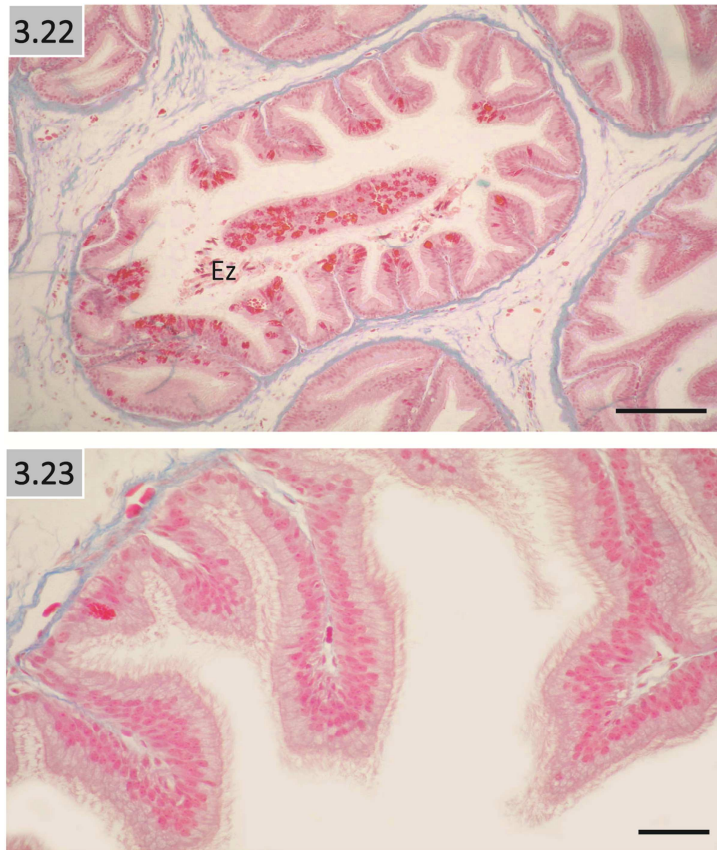


Figura 3.22. Corte transversal de la vesícula seminal. *Ref:* 250 μ m.

Figura 3.23. Detalle del epitelio de la vesícula seminal. *Ref:* 150 μ m.

Referencias: Ez: espermatozoides.

Coloración: Tricrómico de Masson.

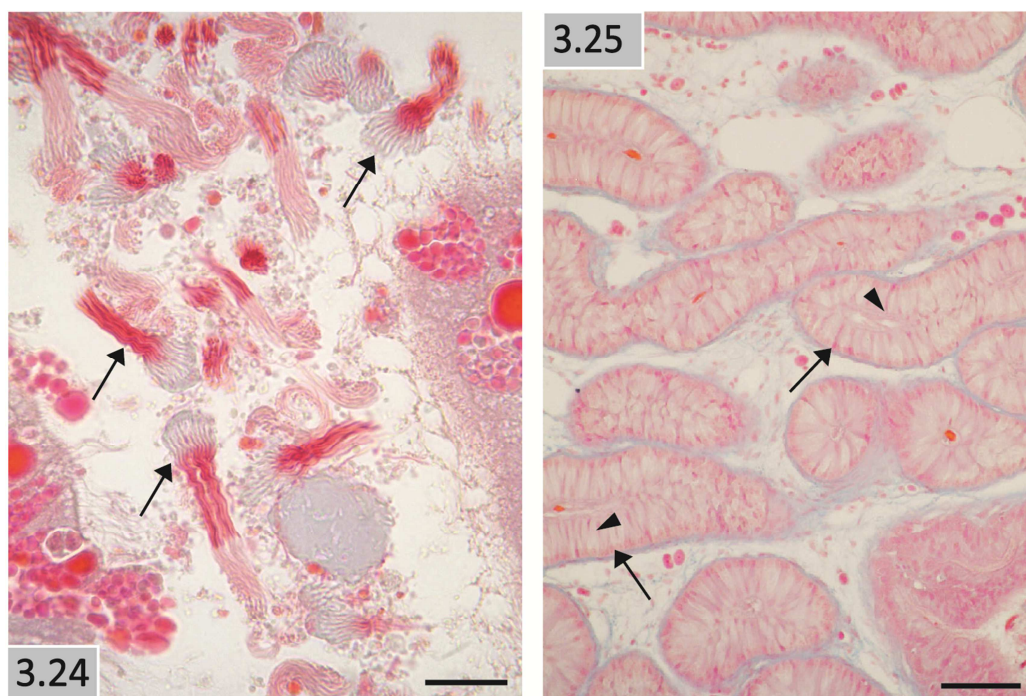


Figura 3.24. Detalle de la agregación espermática en el lumen de la vesícula seminal (flechas). Ref: 25 μm .

Figura 3.25. Glándula de Leydig. Núcleos basales (flechas) y núcleos apicales (punta de flecha) de los dos tipos celulares que conforman la glándula. Ref: 150 μm .
Coloración: Tricrómico de Masson.

Verificación del estadio de madurez

Al corroborar la concordancia entre la madurez sexual macroscópica y microscópica de los individuos, se identificaron 2 ejemplares que, habiendo sido clasificados como juveniles, presentaban cistos con espermatozoides maduros y esperma en el lumen de los conductos. Uno de ellos ya exhibía los *claspers* calcificados, mientras que el otro aún poseía los *claspers* flexibles, no calcificados.

Sistema reproductor femenino

Ovario

A partir del análisis macroscópico del ovario de individuos adultos, se observó la presencia de folículos en distintos estadios de desarrollo, sin diferenciar una camada en particular (Figura 3.26). El rango de talla folicular se ubicó entre 1 mm de diámetro, para los folículos de color blanco, hasta 36 mm para los folículos a término, de color

amarillo oscuro. El tejido ovárico, está en íntima relación con el órgano epigonal, el cual en animales adultos, queda restringido a la zona caudal (Figura 3.26).

Histológicamente, el ovario de *A. cyclophora* está recubierto por una cápsula de tejido conectivo denso, tapizada por un epitelio simple de células cilíndricas ciliadas. En algunos sectores, éste presenta pliegues que le dan apariencia de pseudoestratificado (Figuras 3.27a y 3.27b). El espacio interfolicular, contiene tejido linfomieloide y tejido conectivo laxo vascularizado (Figura 3.27b). Los folículos más pequeños se ubican corticalmente y se internalizan al avanzar la foliculogénesis (Figura 3.27b).

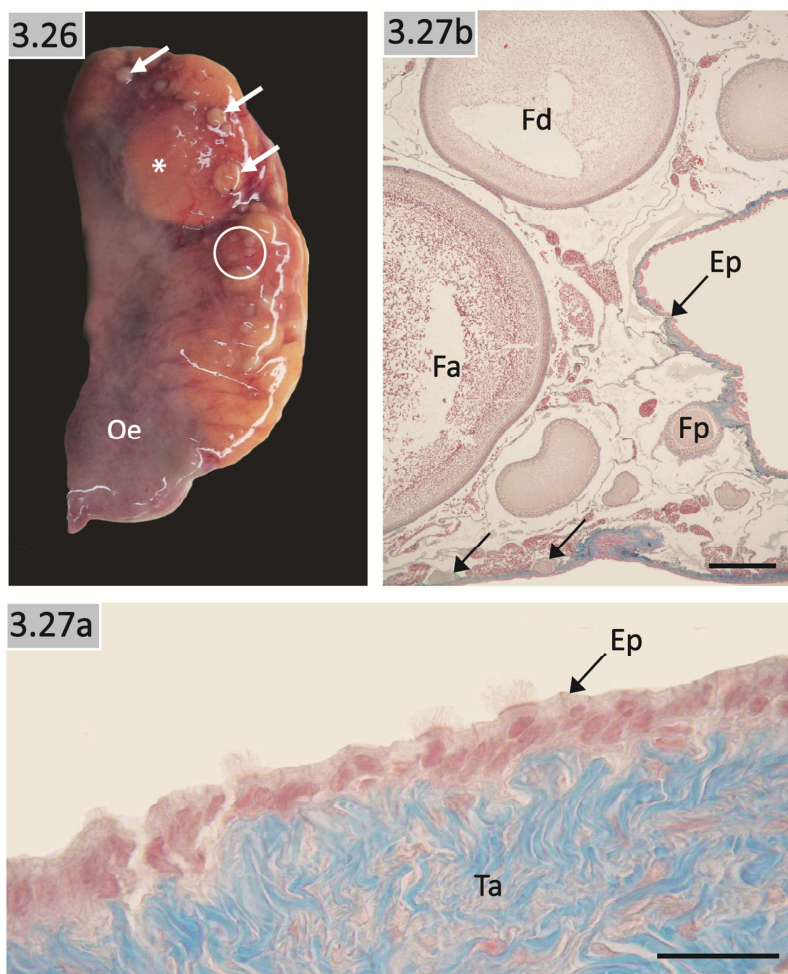


Figura 3.26. Ovario de una hembra adulta de *Atlantoraja cyclophora*, donde puede observarse los folículos en distinto grado de desarrollo: pequeños de color blanco (circulo), medianos amarillentos (flechas) y a término (asterisco).

Figura 3.27. Cortes histológicos del ovario de *Atlantoraja cyclophora*. **(a)** Detalle de la pared del ovario. Ref: 25 μ m. **(b)** Vista general del ovario con folículos en distinto grado de desarrollo: primordiales (flechas negras), primarios (Fp), en desarrollo (Fd) y en desarrollo avanzado (Fa). Ref: 250 μ m.

Referencias: Ep: epitelio ovárico; Oe: órgano epigonal; Ta: túnica albugínea.

Coloración: Tricrómico de Masson.

Desarrollo folicular

Estructuralmente, cada folículo consta (desde el interior hacia el exterior) de: un ovocito, una zona pelúcida acelular, un epitelio folicular (granulosa) con su membrana basal y dos tecas, una interna de apariencia conectiva y otra externa de aspecto glandular (Figuras 3.28 y 3.29). Estos componentes se mantienen durante la maduración ovocitaria, pero atraviesan cambios estructurales que dan lugar a las distintas etapas de la foliculogénesis.

Se identificaron:

- a) folículos previtelogénicos, que incluye los primordiales y primarios,
- b) folículos en desarrollo, que incluye aquellos con vitelogénesis incipiente y
- c) folículos vitelogénicos o en desarrollo avanzado.

No se hallaron ovogonias en los ejemplares analizados.

Los folículos primordiales se ubican en la periferia del ovario, inmediatamente por debajo de la albugínea. Estos se encuentran rodeados por una monocapa de células foliculares planas. Tanto la zona pelúcida como las tecas, no son evidentes en esta etapa de desarrollo folicular (Figura 3.27b). En los folículos primarios, de mayor tamaño y grado de desarrollo, la zona pelúcida envuelve al ovocito por completo y se observa como una matriz heterogénea, ligeramente PAS (+) (Figura 3.29a y 3.29b). La granulosa consiste en una monocapa de células cúbicas y células globulares de mayor tamaño, ligeramente basófilas, con núcleos esféricos eucromáticos. Por fuera de la granulosa, comienzan a diferenciarse las tecas (Figura 3.30).

Al avanzar la maduración folicular, el citoplasma del ovocito comienza a cargarse de gránulos de vitelo (Figura 3.31). Las células globulares de la granulosa aumentan en número, mientras que las cúbicas se tornan columnares y se disponen formando un estrato multilaminar. Las tecas se diferencian notoriamente en una teca interna, vascularizada, de apariencia conectiva, de 1 a 2 capas celulares de espesor y una monocapa externa de células bajas y basófilas, con núcleos heterocromáticos (Figura 3.31). La talla folicular mínima promedio de inicio de vitelogénesis fue 1178 μm (1,7 mm) (rango: 825 – 1700 μm).

En los folículos de desarrollo avanzado, el citoplasma se encuentra completamente cargado de vitelo. La vitelogénesis avanza de forma centripeta y los gránulos se unen para formar placas vitelinas, elípticas y cuadrangulares (Figura 3.32).

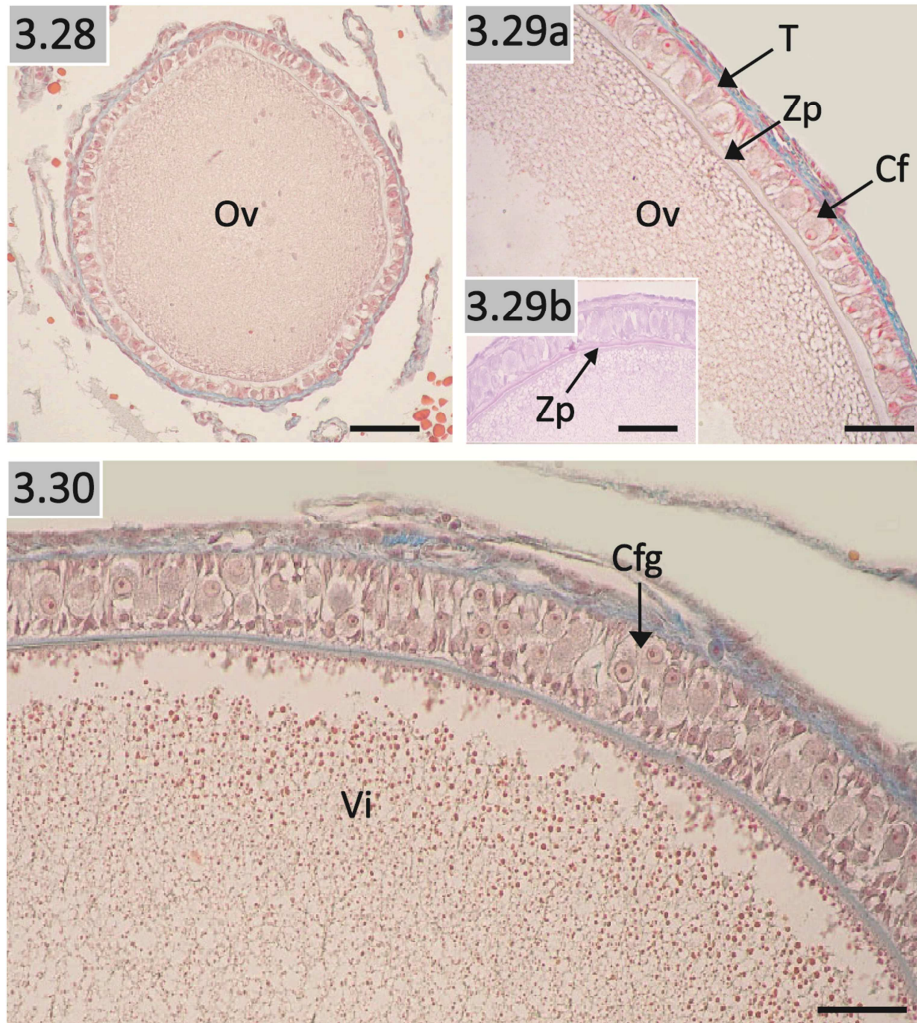


Figura 3.28. Folículo primario. Ref: 250 μm .

Figura 3.29. (a) Detalle de un folículo primario y las estructuras que lo componen. **(b)** Reacción PAS (+) de la zona pelúcida. Ref: 30 μm .

Figura 3.30. Detalle de un folículo en desarrollo con inicio de vitelogénesis. Ref: 250 μm .

Referencias: Cf: células foliculares; Cfg: células foliculares globosas; Ov: ovocito; T: tecas; Vi: vitelo; Zp: zona pelúcida.

Coloraciones: Tricrómico de Masson; PAS (Figura 3.29b).

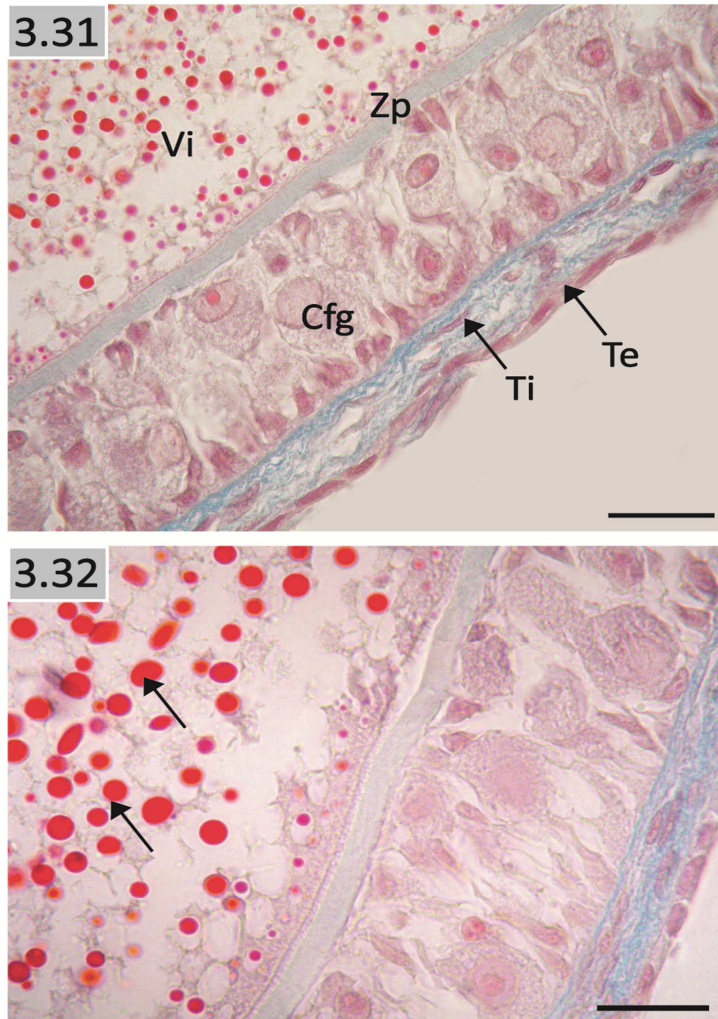


Figura 3.31. Detalle de un folículo en desarrollo avanzado, con gránulos de vitelo en el citoplasma del ovocito. *Ref:* 25 μ m.

Figura 3.32. Detalle de un folículo en desarrollo avanzado con placas de vitelo en el citoplasma del ovocito (flechas). *Ref:* 25 μ m.

Referencias: Cfg: células foliculares globosas; Te: teca externa; Ti: teca interna; Vi: vitelo; Zp: zona pelúcida.

Coloración: Tricrómico de Masson.

Ovulación y formación del cuerpo lúteo

Al producirse la ovulación, el ovocito es liberado envuelto por la zona pelúcida. Las células foliculares permanecen en el ovario y forman el cuerpo lúteo. En las primeras etapas de la luteinización, algunas células foliculares sufren apoptosis y el cuerpo lúteo es infiltrado progresivamente por tejido conectivo denso y cúmulos de linfocitos (Figura 3.33a). Las células foliculares restantes, cilíndricas con núcleos basales heterocromáticos, se diferencian en células con características luteínicas y la mucosa forma pliegues que ocupan la cavidad central (Figura 3.33b). Finalmente, la estructura degenera y es rodeada por una envoltura densa de tejido conectivo, formando una cicatriz (Figura 3.33c).

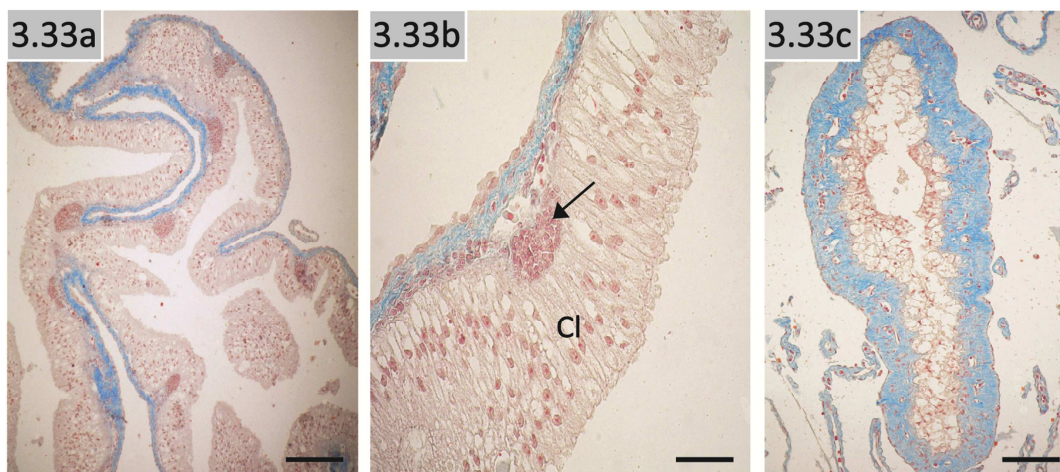


Figura 3.33. Cuerpo lúteo. **(a)** Vista general de un cuerpo lúteo en formación. *Ref:* 300 μm . **(b)** Detalle de las células luteínicas (Cl) y de la infiltración de células linfocitarias (flecha). *Ref:* 30 μm . **(c)** Cuerpo lúteo atrésico. *Ref:* 250 μm .

Coloración: Tricrómico de Masson.

Oviducto anterior

El oviducto de ejemplares adultos de *A. cyclophora* consiste en un órgano tubular delgado que comunica el *ostium* con la glándula oviductal (Figura 3.34). Histológicamente exhibe 3 túnicas: mucosa, muscular y serosa. La túnica mucosa presenta pliegues de distinta longitud, entre los que desembocan glándulas tubulares simples y ramificadas (Figura 3.35a). Estas glándulas están revestidas por células cilíndricas ciliadas, con núcleos heterocromáticos centrales (Figura 3.35b). Entre ellas, se encuentran intercaladas células mucosas, de núcleo basal, cuyo citoplasma apical presenta inclusiones que reaccionan positivamente con AB y levemente con PAS, revelando la presencia de glucoproteínas ácidas y neutras (Figura 3.35c). Ambos tipos celulares aumentan en altura hacia la profundidad de los pliegues. Al mismo tiempo, su reactividad histoquímica disminuye hasta desaparecer por completo en el fondo del

pliegue. Por debajo se encuentra un corion de tejido conectivo laxo, muy vascularizado (Figura 3.35d). La túnica muscular comprende 2 capas de fibras musculares lisas, una interna de disposición circular y una externa longitudinal. El órgano se encuentra rodeado por una túnica serosa delgada, de tejido conectivo laxo revestido por epitelio simple plano (Figura 3.35d).

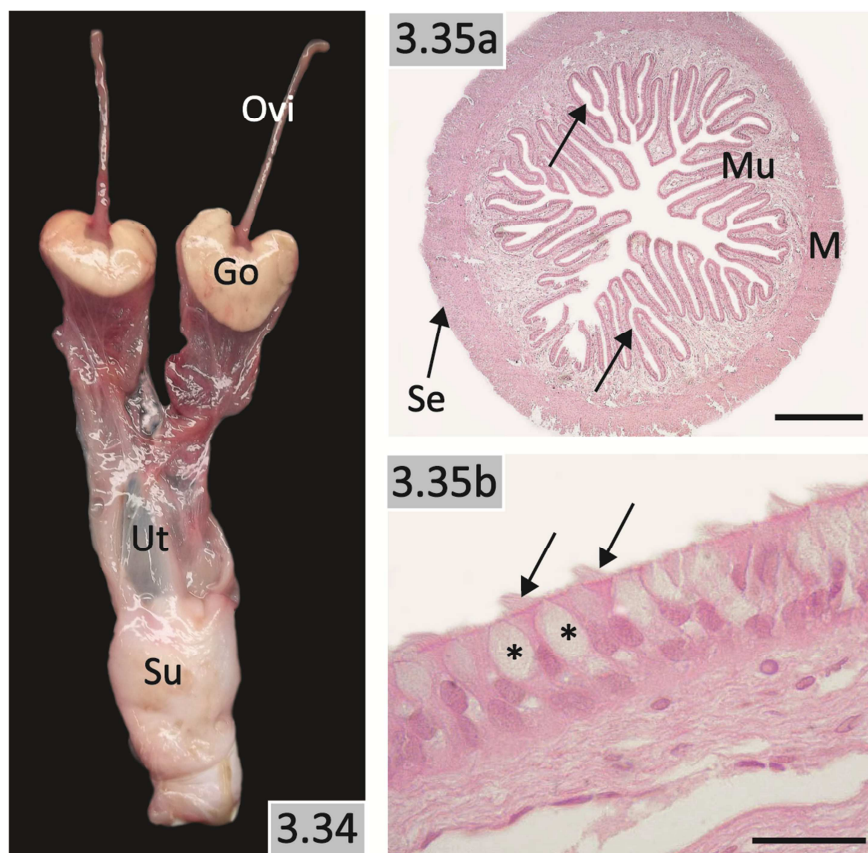


Figura 3.34. Detalle macroscópico de los oviductos, glándulas oviductales y úteros de *Atlantoraja cyclophora*.

Figura 3.35. Corte histológico del oviducto. **(a)** Vista general de un corte transversal, donde se pueden observar las glándulas tubulares ramificadas (flechas). Ref: 250 μm . **(b)** Detalle de las células epiteliales cilíndricas ciliadas (flechas) y serosas (asteriscos). Ref: 25 μm .

Referencias: Go: glándula oviductal; M: túnica muscular; Mu: mucosa; Ovi: oviducto; Se: túnica serosa; Su: seno urogenital; Ut: útero.

Coloración: Hematoxilina – Eosina.

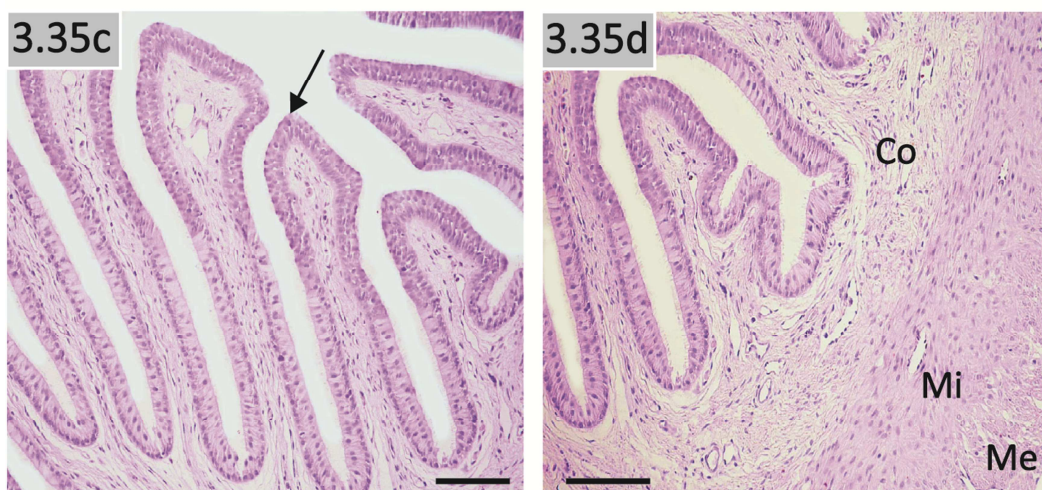


Figura 3.35. Corte histológico del oviducto. **(c)** Detalle de los pliegues de la mucosa y de la reactividad PAS (+) de las células serosas (flecha). *Ref:* 250 μ m. **(d)** Detalle del corion y la túnica muscular. *Ref:* 250 μ m.

Referencias: Co: corion; Me: túnica muscular externa; Mi: túnica muscular interna.

Coloración: PAS.

Glándula oviductal

La glándula oviductal de ejemplares adultos de *A. cyclophora* presenta forma acorazonada y está conformada por dos mitades idénticas que rodean un lumen aplanado (Figura 3.36a y 3.36b). Histológicamente, se diferencian tres túnicas equivalentes a las del oviducto: una túnica mucosa muy desarrollada, seguida de una muscular y una serosa delgadas (Figura 3.37).

La túnica mucosa de la glándula oviductal, está revestida por una monocapa de células cilíndricas ciliadas, con núcleo eucromático, de posición media a basal y un corion ocupado por glándulas tubulares (Figura 3.38). Esta túnica exhibe variaciones morfohistoquímicas que permiten diferenciar cuatro zonas características, denominadas de craneal a caudal (Figuras 3.37 y 3.39): *club*, *papillary*, *baffle* y *terminal* (Hamlett *et al.*, 1998).

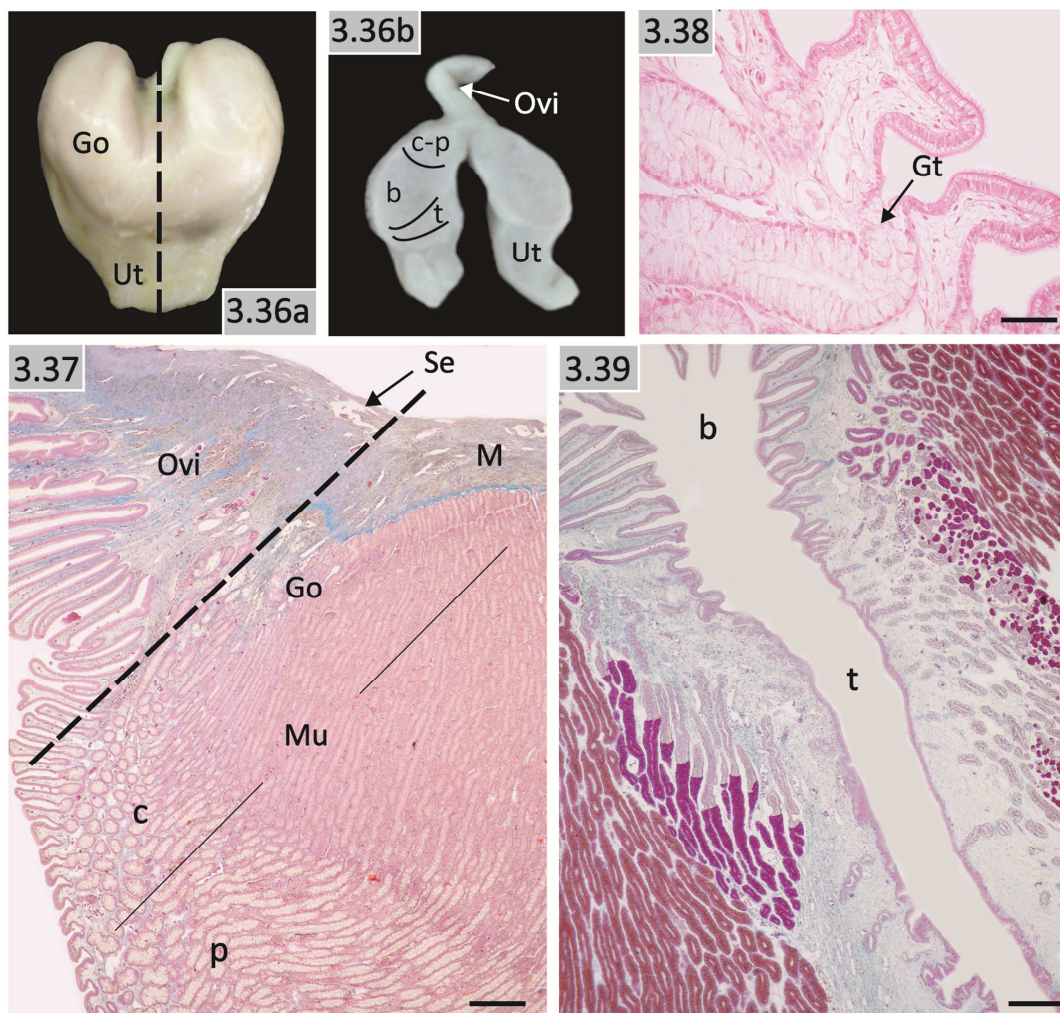


Figura 3.36. Glándula oviductal. **(a)** Vista dorsal de la glándula oviductal, la línea punteada indica el sentido del corte sagital. **(b)** Corte sagital de la glándula oviductal indicando la zona *club* y *papillary* (c-p), zona *baffle* (b) y zona *terminal* (t).

Figura 3.37. Corte histológico sagital del oviducto y la glándula oviductal, donde puede apreciarse las zonas *club* (c) y *papillary* (p). Ref: 250 μ m.

Figura 3.38. Detalle de epitelio de revestimiento de la glándula oviductal. Ref: 30 μ m.

Figura 3.39. Corte histológico sagital de las zonas *baffle* (b) y *terminal* (t) de la glándula oviductal. Ref: 250 μ m.

Referencias: Go: glándula oviductal; Gt: glándula tubular; M: túnica muscular; Mu: mucosa; Ovi: oviducto; Se: túnica serosa; Ut: útero.

Coloraciones: Hematoxilina – Eosina (Figura 3.38); Tricrómico de Masson (Figuras 3.37 y 3.39).

Las zonas *club* y *papillary* presentan una mucosa con pliegues alargados, rectos y cortos, siendo más irregulares en la primera y más largos y uniformes en la segunda (Figura 3.40a). Ambas zonas, poseen glándulas tubulares que se ramifican hacia el interior del corion. Los adenómeros de estas glándulas se componen mayormente de células secretoras que reaccionan positivamente con PAS y AB y de escasas células ciliadas (Figuras 3.40b y 3.40c).

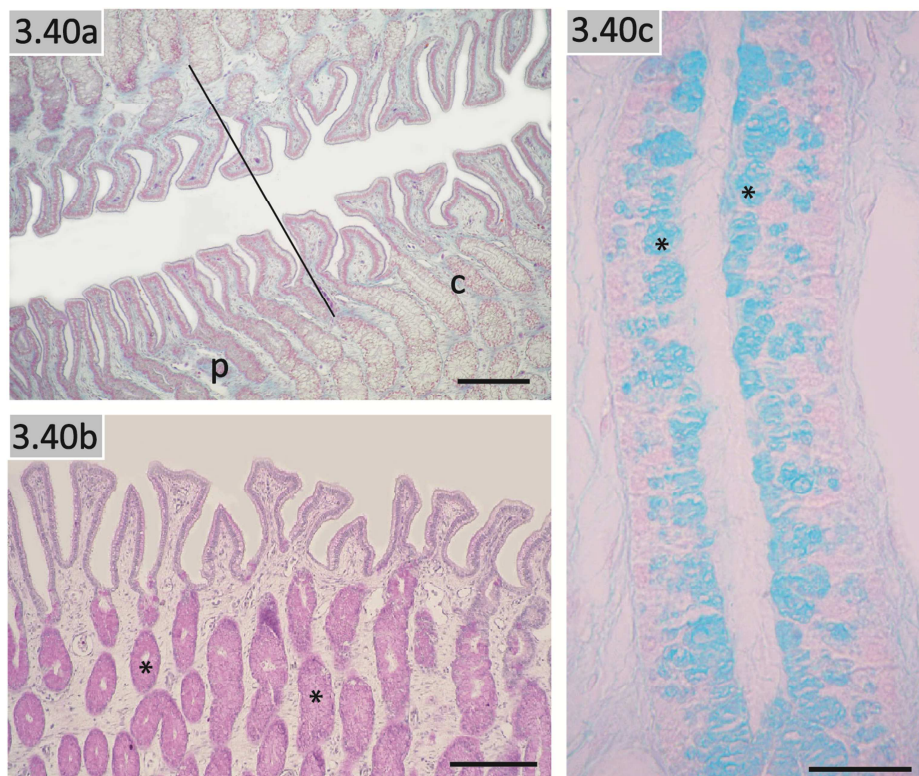


Figura 3.40. Zonas *club* (c) y *papillary* (p). **(a)** Detalle de la mucosa. Ref: 250 μ m. **(b)** Vista general de la mucosa y los acinos glandulares PAS (+) (asteriscos). Ref: 250 μ m. **(c)** Detalle de un adenómero y las células secretoras AB (+) (asteriscos). Ref: 25 μ m. Coloraciones: Azul alcian (Figura 3.40c); Tricrómico de Masson (Figura 3.40a); PAS (Figura 3.40b).

La zona *baffle* es la más desarrollada de las cuatro. Los pliegues de la mucosa forman lamelas de gran longitud, entre las cuales desembocan glándulas tubulares simples y ramificadas (Figura 3.41a). Las mismas, desembocan en adenómeros conformados por células cilíndricas, con núcleos basales y citoplasma cargado de gránulos AB-PAS (-) (Figura 3.41b). Estas glándulas se encuentran flanqueadas por pliegues o espineretas, cortas (aproximadamente un tercio de la longitud de la lamela) y aguzadas, revestidas por células cilíndricas, con núcleos ligeramente heterocromáticos (Figura 3.41c).

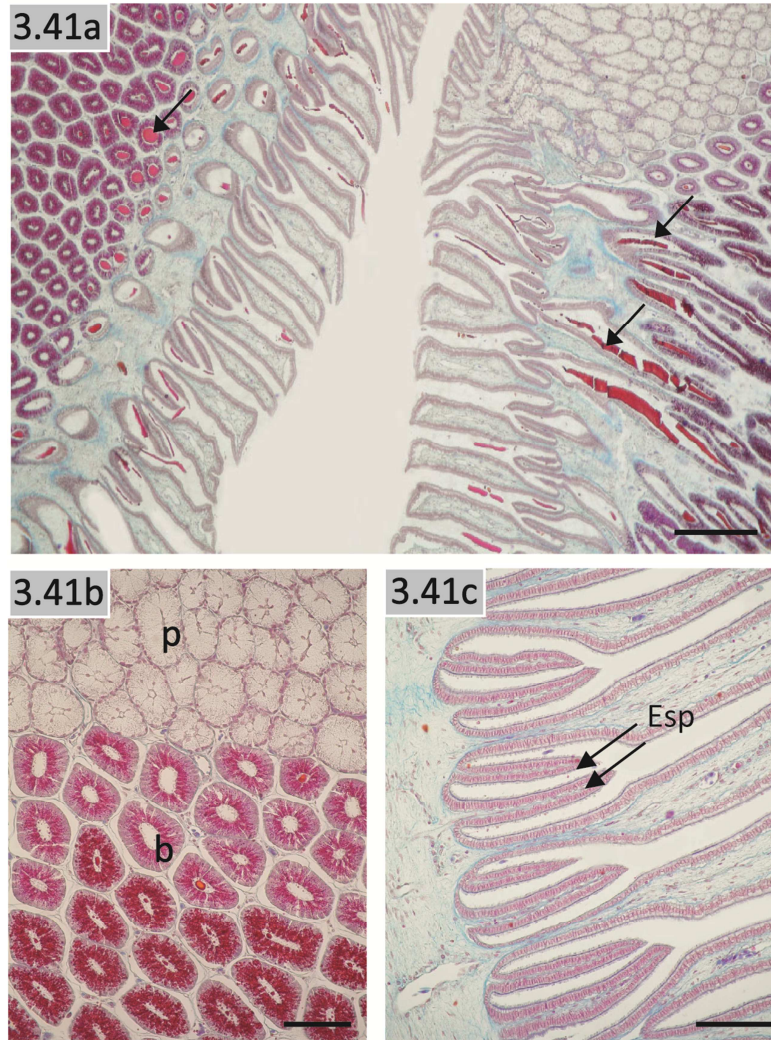


Figura 3.41. Zona *baffle*. **(a)** Vista general de los pliegues de la mucosa y las glándulas tubulares, algunas de las cuales presentan secreción en el lumen (flechas). *Ref:* 250 μm . **(b)** Detalle de los acinos de las zonas *papillary* (p) y *baffle* (b). *Ref:* 250 μm . **c.** Detalle de los pliegues o espineretas. *Ref:* 250 μm .

Referencia: Esp: espinereta.

Coloración: Tricrómico de Masson.

La zona *terminal* carece de pliegues y presenta invaginaciones de la mucosa en las cuales desembocan glándulas tubulares simples y ramificadas. El revestimiento epitelial presenta células cilíndricas que alternan con células secretoras AB (+) y PAS (-) (Figura 3.42a). Este epitelio se continúa hacia los conductos glandulares, donde las células secretoras solo reaccionan levemente con PAS (Figura 3.42b). Los adenómeros de las glándulas tubulares son mixtos, exhibiendo una porción proximal mucosa AB (+) y PAS (-) y una porción distal serosa (Figura 3.42c).

En la glándula oviductal de hembras grávidas, se registró la presencia de secreción en el interior de los adenómeros y en el espacio entre las lamelas de la zona *baffle* (Figura 3.41a). Asimismo, se observaron concreciones filiformes de secreción en el lumen glandular de la zona *terminal* (Figura 3.42c).

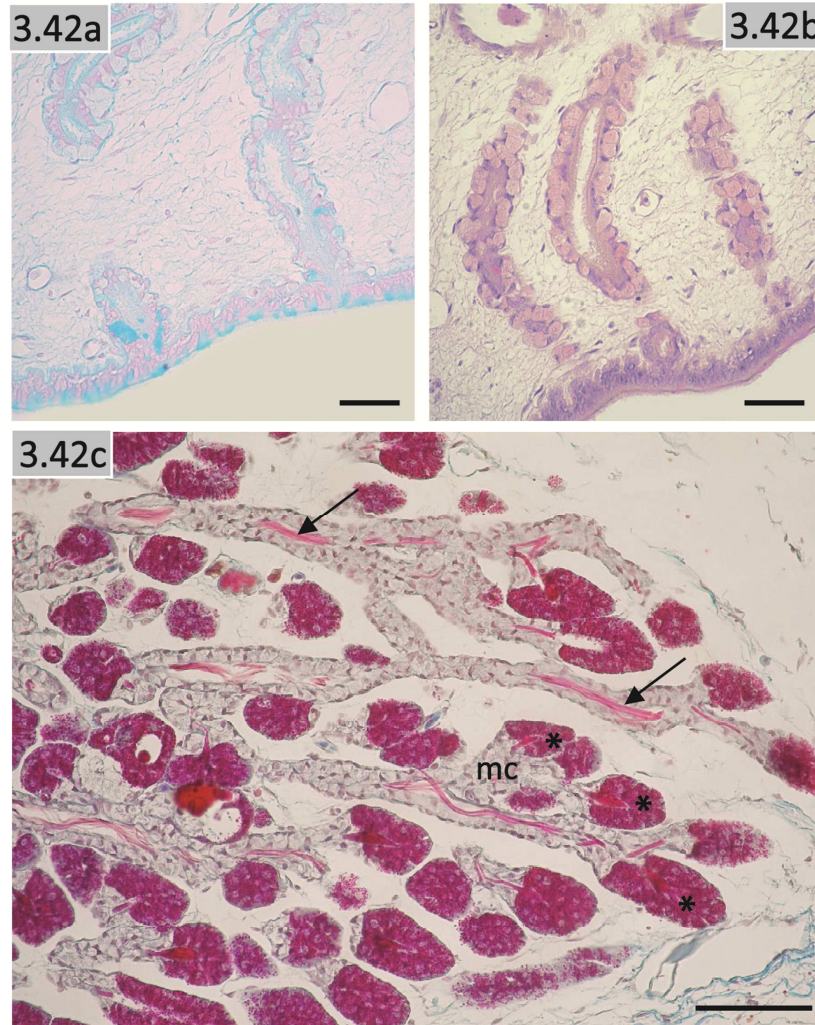


Figura 3.42. Zona *terminal*. **(a)** Detalle del epitelio de la mucosa AB (+). Ref: 30 μ m. **(b)** Detalle de la mucosa y conductos glandulares PAS (+). Ref: 30 μ m. **c.** Adenómeros mucosos (mc) y serosos (asteriscos) con secreción en su interior (flechas). Ref: 250 μ m. Coloraciones: Azul alcian (Figura 3.42a); Tricrómico de Masson (Figura 3.42c); PAS (Figura 3.42b).

Útero

El útero de individuos adultos de *A. cyclophora* presenta una túnica mucosa plegada, revestida por un epitelio simple de células cilíndricas, basófilas, ciliadas y con núcleos eucromáticos. El corion es de tejido conectivo laxo y se encuentra altamente vascularizado (Figura 3.43a). Las células epiteliales muestran gránulos apicales que reaccionan positivamente con PAS y AB (Figura 3.43b y 3.43c). La túnica muscular consiste en una capa interna de disposición circular y una externa longitudinal. La serosa también está muy vascularizada (Figura 3.43a).

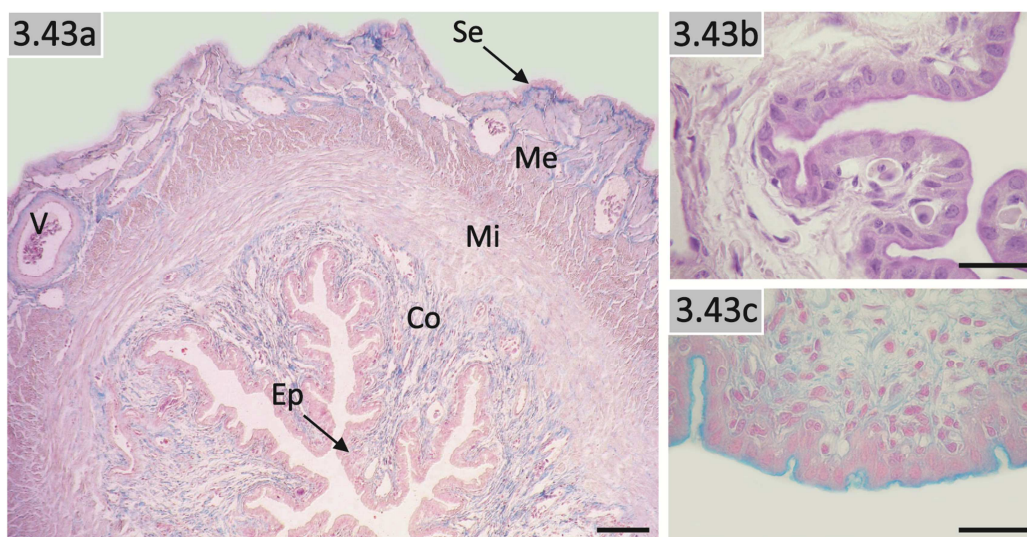


Figura 3.43. Corte histológico del útero. **(a)** Corte transversal donde se observan las tunicas. Ref: 300 μm . **(b)** Detalle del epitelio de la mucosa PAS (+) y **(c)** AB (+). Ref: 25 μm .

Referencias: Co: corion; Ep: epitelio; Me: túnica muscular externa; Mi: túnica muscular interna; Se: túnica serosa; V: vaso sanguíneo.

Coloraciones: Azul alcian (Figura 3.43c); Tricrómico de Masson (Figura 3.43a); PAS (Figura 3.43b).

Cápsulas coriáceas

La cápsula de *A. cyclophora* es rectangular y asimétrica, con la superficie ventral plana y la superficie dorsal convexa (Figura 3.3a). Los cuernos anteriores son cortos y los posteriores largos, levemente curvados y aguzados hacia los extremos. La coloración de base es marrón claro y presenta estrías longitudinales de color marrón oscuro que cubren toda la superficie (Figura 3.3b).

La formación de la cápsula comienza desde su extremo posterior. La porción que se encuentra dentro de la glándula oviductal es blanda y blanquecina y va adquiriendo coloración y rigidez a medida que ingresa en el útero (Figura 3.4).

Discusión

Sistema reproductor masculino

La morfología general del sistema reproductor masculino de *A. cyclophora*, así como la relación existente entre el órgano epigonal y el testículo, concuerda con lo observado en la mayoría de los Rájidos (Wourms, 1977; Pratt 1988; Hamlett, 1999; Engel y Callard, 2005; Walker, 2005). Tanto en machos como hembras, el tipo de asociación entre las gónadas y el órgano epigonal observada en *A. cyclophora* se correspondería con el modelo “sting ray type” (“tipo raya”) propuesto por Honma *et al* (1984).

En los elasmobranquios, los testículos se encuadran en, al menos, tres modelos estructurales distintos, en función del patrón de maduración de los cistos y del tipo de asociación con el órgano epigonal (Pratt, 1988).

Los Lamniformes y algunos batoideos exhiben un testículo de tipo radial, donde la maduración espermática ocurre dentro de lóbulos y los cistos migran radialmente desde la zona germinal central hacia la periferia del lóbulo (Pratt, 1988; Zaiden *et al.*, 2010). Prácticamente todo el resto de los Selacios, tienen un testículo de tipo diamétrico, donde la zona germinal se ubica sobre la superficie distolateral y el desarrollo de los cistos procede diamétricamente, hacia la pared opuesta (Pratt, 1988; McClusky, 2012). Las rayas, incluida *A. cyclophora*, combinan la forma radial y diamétrica en un testículo de tipo compuesto. Los cistos se desarrollan radialmente dentro los lóbulos y migran diamétricamente hacia la superficie dorsal del testículo (Pratt, 1988; Maruska *et al.*, 1996; Poulakis y Grier, 2014; Moya *et al.*, 2015).

En todos los peces cartilaginosos, la espermatogénesis es de tipo cística y comienza con la asociación de una célula germinal y una célula somática precursora de la de Sertoli (Hamlett, 1999; McClusky, 2012). Estas últimas, juegan un papel fundamental en el soporte físico y en la agrupación de células germinales, así como en el control del microambiente que las rodea (Roosen-Runge, 1977; Hamlett, 1999). Al igual que lo reportado en otros elasmobranquios (Stanley, 1966; Maruska *et al.*, 1996; Girard *et al.*, 2000; Chatchavalvanich *et al.*, 2005; Engel y Callard, 2005; McClusky, 2012; Moya *et al.*, 2015), el desarrollo de los espermatozoides (también llamados ampollas o folículos seminíferos; Matthews, 1950; Pratt, 1988) y la consecuente zonación del testículo en *A. cyclophora*, ocurren a partir de una zona germinal. Sin embargo, la presencia de papilas germinales, no parece ser una característica común dentro del grupo y solo ha sido documentada en algunas especies de condriactios (Stanley, 1963; Maruska *et al.*, 1996; Chatchavalvanich *et al.*, 2005; Zaiden *et al.*, 2010; Settembrino, 2013; Poulakis y Grier, 2014).

El testículo es el principal sitio de síntesis de esteroides, la mayoría son producidos por las células de Sertoli con la contribución de las células de Leydig (Engel y Callard, 2005; Prisco *et al.*, 2002a). Pudney y Callard (1984) observaron, en *Squalus*, que las células de Sertoli son responsables de la secreción de las cantidades crecientes

de andrógenos durante el ciclo espermatogénico. Posteriormente, confirmaron que durante la espermiación se produce el desprendimiento del citoplasma apical de las células de Sertoli (citoplastos), los cuales, según estos autores, son responsables de la producción de esteroides endógenos (Pudney y Callard, 1986). Estos citoplastos, junto con otros tipos de materiales (cuerpos de las células de Sertoli y los cuerpos de la glándula de Leydig), han sido hallados en el lumen de los conductos seminíferos de muchos elasmobranquios (Hamlett, 1999; Jones *et al.*, 2005) y *A. cyclophora* no es una excepción. A lo largo de todo el conducto seminífero, se hallaron cuerpos acidófilos, de color anaranjado con diferentes tamaños y otros de coloración celeste, asociados a los espermatozoides. Estos últimos, fueron hallados tanto en el interior del cisto, como en la vesícula seminal. Si bien podría tratarse de citoplastos, al igual que lo observado en *Squalus* por Pudney y Callard (1986), debería llevarse a cabo un estudio ultraestructural más detallado para identificar su naturaleza.

Al finalizar la espermiación, los espermatozoides y restos de las células de Sertoli son liberados al sistema de conductos espermáticos. En este trabajo, se observó que el epitelio que recubre al epidídimo y al conducto deferente, inicia como un epitelio simple cilíndrico ciliado en el epidídimo proximal y luego se pliega tomando el aspecto de pseudoestratificado hacia la porción más distal del conducto deferente. Esta característica concuerda con otras especies de elasmobranquios, dado que existen reportes de distintos revestimientos epiteliales (desde un epitelio simple, cúbico o columnar a pseudoestratificado) y de especializaciones (cilias, esterocilios o microvellosidades) (Jones y Lin, 1993; Chatchavalvanich y Visuttiapat, 1994; Hamlett, 1999; Hamlett *et al.*, 1999b, Chatchavalvanich *et al.*, 2005; Jones y Hamlett, 2006; Colonello, 2009; Moya *et al.*, 2015). La ausencia de una túnica muscular desarrollada parece ser una particularidad compartida entre los Elasmobranquios y por lo tanto, las cilias o esterocilios tendrían un papel importante en la movilización del esperma (Jones y Lin, 1993; Chatchavalvanich *et al.*, 2005; Jones y Hamlett, 2006).

En general en las rayas y tiburones, cualquiera sea el modo reproductivo, los espermatozoides se encuentran libres en el epidídimo y la agregación espermática ocurre en la vesícula seminal (Matthews, 1950; Jones *et al.*, 1984; Pratt y Tanaka, 1994; Chatchavalvanich y Visuttiapat, 1994; Hamlett *et al.*, 1999b, 2002b; Girard *et al.*, 2000). Sin embargo, no en todos los casos el esperma se agrega y éste puede hallarse libre, sin rodearse de una matriz (*H. signifer*, Chatchavalvanich *et al.*, 2004). La agregación consiste en la formación de una masa cohesiva, compuesta por una matriz y esperma, que puede adquirir distintas configuraciones (Pratt y Tanaka, 1994; Hamlett, 1999). En *A. cyclophora* se observó que la agregación espermática es progresiva y resulta en un empaquetamiento similar al de tipo *espermatozeugmata*. Dicha estructura, consiste en espermatozoides alineados lateralmente, cabeza con cabeza, formando cúmulos, pero dispersos en el lumen del conducto, sin la producción de una matriz. Este tipo de empaquetamiento también ha sido observado en otras especies de batoideos y selacios (Pratt y Tanaka, 1994; Girard *et al.*, 2000) e incluso

dentro del género (*A. castelnaui*; Colonello, 2009; *A. platana*, Moya, 2016). Se ha propuesto que el empaquetamiento espermático en los machos, constituye una unidad estructural más eficiente para la nutrición y almacenamiento de los espermatozoides y a su vez, representa una ventaja frente a la pérdida de gametas durante la cópula (Matthews, 1950; Pratt y Tanaka, 1994).

En la especie en estudio, se observó que el revestimiento epitelial de la glándula de Leydig responde al modelo de otros elasmobranquios y holocéfalos (Jones y Lin, 1993; Hamlett *et al.*, 2002b; Reardon *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2005; Chatchavalvanich *et al.*, 2005; Jones y Hamlett, 2006; Pedreros Sierra y Ramirez Pinilla, 2015; Moya, 2016). Este órgano, consiste en un conjunto de glándulas tubulares ramificadas que vuelcan su secreción rica en carbohidratos y proteínas glicosiladas en el epidídimo y en el conducto deferente (Hamlett, 1999). Jones y Hamlett (2006), plantean que en *Raja eglanteria*, las secreciones de la glándula de Leydig y el epidídimo contribuyen al contenido luminal de los conductos espermáticos y que dichas secreciones desempeñan un papel importante en la maduración y motilidad espermática. Del mismo modo, Jones y Lin (1993) sugieren que en *Heterodontus portusjacksoni*, las secreciones proteicas de la glándula de Leydig participan en la formación de los agregados espermáticos, que ocurren tanto en el epidídimo distal y en el conducto deferente, como en la vesícula seminal. Resultados similares han sido reportados en holocéfalos (Hamlett *et al.*, 2002b; Reardon *et al.*, 2002). La presencia de secreción AB (+) en el lumen de la glándula de Leydig y en los conductos espermáticos de *A. cyclophora*, evidenciaría una posible contribución de la glándula de Leydig al contenido luminal y a la conformación del agregado espermático.

En este trabajo se observó que la maduración testicular puede ocurrir cuando el individuo aún posee los *claspers* flexibles y no calcificados, es decir, antes de que el individuo pueda aparearse efectivamente. Esta observación fue registrada también en *A. platana* (Moya, 2016) y en otros elasmobranquios (Girard *et al.*, 2000). Sin embargo, aquí también se observó un individuo con *claspers* calcificados, cuyos órganos sexuales internos, determinados macroscópicamente como inmaduros, ya habían atravesado el proceso de espermatogénesis y espermiación. Por lo tanto, el criterio macroscópico utilizado para determinar la madurez de los órganos sexuales internos, puede subestimar la madurez sexual. Si bien aquí se reporta un solo caso, el mismo pone en evidencia la importancia de la aplicación de criterios microscópicos para la determinación de madurez de los individuos.

Sistema reproductor femenino

La estructura del sistema reproductor femenino de *A. cyclophora*, incluida la asociación del ovario y el órgano epigonal, es compartida por todas las especies de Rájidos y tiburones ovíparos (Hamlett y Koob, 1999; Galíndez y Aggio 2002; Lutton *et al.*, 2005; Colonello, 2009; Díaz Andrade *et al.*, 2009, 2011; Serra Pereira *et al.*, 2011b; Wehitt *et al.*, 2015; Moya *et al.*, 2017).

Existen al menos dos variantes morfológicas propuestas por Pratt (1988), en cuanto a la estructura ovárica de los elasmobranquios. El ovario de *A. cyclophora* adscribe al modelo de “tipo externo”, el cual se origina sobre la superficie plana del órgano epigonal.

La simetría morfológica y funcional del ovario de la especie en estudio es habitual en los Rájidos (Wourms, 1977; Hamlett y Koob, 1999; Lutton *et al.*, 2005), pero no es una constante en los peces cartilaginosos, ya que algunos géneros pueden presentar solo un ovario funcional (Metten, 1939; Dodd, 1983; Chatchavalvanich y Visuttipat, 1997; Hamlett y Koob, 1999; Storrie, 2004; Galíndez *et al.*, 2014; Henderson *et al.*, 2014; Pedreros Sierra *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2017).

El estudio histológico del ovario de *A. cyclophora*, indica que la organización interna del ovario, el patrón de distribución de los folículos y el desarrollo ovocitario, concuerdan con lo observado en otros batoideos (Hamlett y Koob, 1999; Barone *et al.*, 2007; Colonello, 2009; Díaz Andrade, 2010; Wehitt *et al.*, 2015; Moya *et al.*, 2017). Asimismo, el tipo de revestimiento ovárico es concordante dentro del grupo. Los pliegues del epitelio y la presencia de una túnica albugínea con células musculares lisas, evidencian la adaptación típica de un recubrimiento que está sujeto a distensión, preparado para afrontar los cambios de volumen que muestra el órgano a lo largo del ciclo reproductivo (Díaz Andrade, 2010; Galíndez *et al.*, 2014; Moya, 2016).

La estratificación del epitelio folicular a lo largo de la maduración ovocitaria, así como la presencia de distintos tipos celulares conformando la granulosa, se encuentra en otros Rájidos (Pratt, 1988; Lutton *et al.*, 2005; Prisco *et al.*, 2007; Díaz Andrade *et al.*, 2009; 2011; Moya *et al.*, 2017). Distintos estudios han demostrado la conexión estrecha que se establece entre las células foliculares y el ovocito, tanto en elasmobranquios (Hamlett *et al.* 1999c; Prisco *et al.*, 2001; 2002b; 2002c; Davenport *et al.*, 2011; Dunbar *et al.*, 2017) como en holocéfalos (Díaz Andrade *et al.*, 2018). A pesar de las diferencias estructurales halladas entre dichas conexiones, que pueden ser desde “transosomas”, (Hamlett *et al.*, 1999c), “puentes intercelulares” (Prisco *et al.*, 2002b) a “procesos foliculares” (Davenport *et al.*, 2011), todos ellos participarían en el transporte de metabolitos y sustancias de reserva al ovocito en desarrollo. Si bien en este trabajo se observaron al menos dos tipos celulares en el epitelio folicular, se requieren estudios ultraestructurales detallados para dilucidar el tipo morfológico de la relación.

El ovario de los elasmobranquios realiza tres funciones principales: la producción de células germinales, la acumulación de vitelo como reserva nutricional para el embrión y la biosíntesis y secreción de hormonas (Lutton *et al.*, 2005).

La foliculogénesis comienza con la proliferación de las ovogonias y prosigue con la diferenciación folicular a partir de un folículo primordial (Lutton *et al.*, 2005; McMillan, 2007). En este trabajo no se hallaron ovogonias en los ejemplares adultos analizados. Este hecho es algo común dentro de los elasmobranquios, ya que por lo general, la presencia de ovogonias ocurre en etapas tempranas del desarrollo de los

individuos (Storrie, 2004; Serra Pereira *et al.*, 2011b; Wehitt *et al.*, 2015; Moya, 2016; Pedreros Sierra *et al.*, 2016). Sin embargo, existen ejemplos de peces cartilaginosos en los cuales estas células están presentes en hembras en maduración, e incluso gestantes (*S. bonapartii*, Díaz Andrade *et al.*, 2011; *M. schmitti*, Galíndez *et al.*, 2014). Por lo tanto, el patrón de reclutamiento de células inmaduras podría estar asociado con la estrategia reproductiva de la especie y su capacidad reproductiva (Prisco *et al.*, 2001; McMillan, 2007).

La vitelogénesis es el proceso de acumulación de vitelo en el ooplasma. La información sobre la talla ovocitaria a la cual se inicia la vitelogénesis, es crucial para determinar el compromiso madurativo de la hembra. En este trabajo se observó que la vitelogénesis comienza en folículos de aproximadamente 1,7 mm de talla media; por lo tanto, un porcentaje de los folículos de color blanco observados macroscópicamente, podrían estar ya comprometidos con su función reproductiva. Oddone *et al* (2008) registraron una talla de 9 mm para el comienzo de la vitelogénesis en esta misma especie, determinada macroscópicamente, cuando los folículos son de color amarillo claro. Por lo tanto, para poder diagnosticar el estatus reproductivo de las hembras, deberían implementarse también criterios histológicos, ya que la observación macroscópica podría llevar a una subestimación en el número de folículos vitelogénicos.

Durante la ovogénesis, entre otras funciones, la teca desempeña un papel importante en el mantenimiento de la integridad física del ovocito (Davenport *et al.*, 2011). La diferenciación y disposición de las tecas en *A. cyclophora* es semejante a la observada, en otros elasmobranchios (Prisco *et al.*, 2007; Barone *et al.*, 2007; Colonello, 2009; Díaz Andrade, 2010; Wehitt *et al.*, 2015; Moya, 2016). Sin embargo, las células de la teca externa de la especie en estudio, no presentan las características histológicas compatibles con la actividad sintética de esteroides, como ha sido observado en otras especies, tales como *Torpedo marmorata* (Prisco *et al.*, 2007), *S. bonapartii* y *S. acuta* (Díaz Andrade, 2010), *Zearaja chilensis* (Wehitt, *et al.*, 2015), *A. platana* (Moya, 2016). La teca interna estaría implicada en la vehiculización de promotores vitelínicos, dada su marcada vascularización, consistente con lo propuesto en otras especies (Díaz Andrade, 2010; Galíndez *et al.*, 2014; Wehitt, *et al.*, 2015; Moya, 2016).

En el momento de la ovulación, el ovocito pierde el soporte físico folicular y es liberado en la cavidad del cuerpo, envuelto solo por la zona pelúcida. Tanto en los mamíferos como en otros vertebrados, esta estructura juega un papel importante en la protección del ovocito en desarrollo y en la supervivencia embrionaria (McMillan, 2007). Asimismo, las glucoproteínas que la conforman poseen receptores y activadores para los espermatozoides que facilitan la fecundación del óvulo. También contribuyen a la reacción acrosómica y participan en la prevención de la poliespermia (Ravaglia y Maggese, 2003; Modig *et al.*, 2007). La presencia de glucoproteínas ácidas observadas

aquí, también ha sido registrada en otras especies de rayas (Díaz Andrade *et al.*, 2009, 2011; Wehitt *et al.*, 2015; Moya, 2016; Waltrick *et al.*, 2016).

En los elasmobranquios, tanto el desarrollo ovárico como la ovulación, son sincronizados por las hormonas esteroides producidas por el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal (Awruch, 2013). Una vez ocurrido el proceso ovulatorio, los restos foliculares persisten en el ovario y se transforman en folículos postovulatorios (Lutton *et al.*, 2005; McMillan, 2007). Estas células foliculares postovulatorias pueden adquirir características de células luteínicas y convertirse en cuerpos lúteos, los cuales funcionan como glándulas endocrinas transitorias, siendo una fuente de hormonas esteroides, principalmente progesterona (P4) (Waltrick *et al.*, 2016). La organización del cuerpo lúteo observada en este trabajo concuerda con lo registrado por otros autores (Callard *et al.*, 1989; Chatchavalvanich y Visuttiapat, 1997; Díaz Andrade, 2010; Galíndez *et al.*, 2014; Moya, 2016; Waltrick *et al.*, 2016) y pareciera ser similar tanto en elasmobranquios ovíparos como vivíparos (McMillan, 2007), difiriendo solo en la duración del mismo.

La función principal del oviducto anterior es el transporte del ovocito hacia la glándula oviductal. En especies donde la túnica muscular esta poco desarrollada o ausente, se presume que el transporte a través del oviducto ocurre exclusivamente por el movimiento ciliar (Metten, 1939; Hamlett y Koob, 1999; Díaz Andrade, 2010). En este trabajo, se observó una túnica muscular muy desarrollada por lo cual el transporte podría efectuarse por el movimiento ciliar más el auxilio de contracciones musculares, tal como fue propuesto por Moya (2016) para *A. platana*.

El diseño funcional de la glándula oviductal de *A. cyclophora* concuerda con lo observado en la mayoría de los Elasmobranquios (Hamlett *et al.*, 1999a; Hamlett *et al.*, 2005c; Colonello, 2009; Díaz Andrade, 2010; Moya, 2016). Las zonas *club* y *papillary*, son las encargadas de producir las secreciones gelatinosas (“egg jelly”) que envuelven directamente al ovocito. Dicha cubierta, le brinda soporte hidrodinámico y contribuye con la nutrición del embrión (Koob y Straus, 1988; Smith *et al.*, 2004). La presencia de glucoproteínas ácidas y neutras en las zonas *club* y *papillary*, también ha sido reportada en otras especies (Feng y Knight, 1992; Smith *et al.*, 2004; Hamlett *et al.*, 2005c; Galíndez y Estecondo, 2008; Serra Pereira *et al.*, 2010; Henderson *et al.*, 2014; Moya, 2016). La zona *baffle* es el sitio de producción y ensamblaje de la cápsula coriácea, mediante la secreción de material proteico por las células glandulares (Knight *et al.*, 1996). El grado de desarrollo y complejidad de esta zona varía según el modo reproductivo y la morfología de la cápsula (Marongiu *et al.*, 2015). Por ejemplo, en las especies ovíparas, incluida *A. cyclophora*, esta zona está muy especializada y desarrollada (Hamlett *et al.*, 1998; Díaz Andrade, 2010; Serra Pereira *et al.*, 2010; Moya, 2016). Las cápsulas producidas son rígidas y protegen al huevo y al embrión en desarrollo de la acción corrosiva del agua de mar y de los depredadores (Koob y Cox, 1988; Feng y Knight, 1992; Lucifora y García, 2004; Hamlett y Koob, 1999). En las especies vivíparas, en cambio, la zona *baffle* puede estar reducida o ausente y producir

cápsulas delgadas y flexibles (Hamlett *et al.*, 1998; 2005c). Sin embargo, a pesar de las diferencias, el mecanismo para el ensamblaje de la cápsula es el mismo (Hamlett *et al.*, 1998). Por último, la función de la zona *terminal* en las especies ovíparas, consiste en la formación de los cuernos y en la ornamentación de la cápsula, mediante secreciones producidas por la porción serosa. La secreción producida por los adenómeros mucosos permite la adhesión de arena y detritos, que le sirven de camuflaje a la cápsula (Smith *et al.*, 2004; Hamlett *et al.*, 2005c). En algunas especies de condrictios, la zona *terminal* es el sitio de almacenamiento de esperma (Pratt, 1993; Hamlett *et al.*, 2002a; Smith *et al.*, 2004; Díaz Andrade, 2010; Moura *et al.*, 2011; Porcu *et al.*, 2014). Este es un mecanismo conservado evolutivamente y destinado a asegurar la fertilización en especies que presentan comportamientos migratorios, segregación sexual o baja densidad poblacional (Pratt, 1993; Storrie *et al.*, 2008; Holt y Lloyd, 2009). La presencia de esperma en la glándula oviductal ha sido reportada en algunas especies de rayas (Hamlett *et al.*, 1998; Díaz Andrade, 2010) e incluso dentro del género (*A. castelnaui*; Colonello, 2009; *A. platana*, Moya 2016), aunque en este último caso podría tratarse de un almacenamiento espermático parcial, ya que el esperma fue registrado de forma desagregada, entre las lamelas de la zona *baffle*. En los ejemplares analizados en este trabajo no se observó la presencia de espermatozoides dentro de la glándula oviductal, sin embargo sería conveniente analizar un tamaño de muestra mucho mayor y muestreos a lo largo del año, para corroborar estos resultados.

El útero de los Elasmobranquios, presenta modificaciones estructurales que permiten el pasaje del huevo o la gestación de los embriones, el suministro de oxígeno y la biosíntesis y secreción de materiales estructurales o sustancias nutritivas para los embriones (Galíndez *et al.*, 2010; Díaz Andrade *et al.*, 2013). También se ha propuesto, para las especies ovíparas, que en el lumen uterino se produciría la esclerotización (endurecimiento) y oscurecimiento de la cápsula (Koob, 1991; Koob y Cox, 1988, 1990, 1993). El útero de *A. cyclophora* presenta características morfológicas e histológicas similares a otras rayas estudiadas (Young, 1995; Hamlett y Hysell, 1998; Koob y Hamlett, 1998; Díaz Andrade, 2010, Wehitt *et al.*, 2015). La presencia conjunta de glucoproteínas ácidas y neutras, observada en este trabajo, en las células mucosas del epitelio uterino, también fue planteada en *S. acuta* y *S. bonapartii* (Díaz Andrade *et al.*, 2013). Este hecho, sugiere que el revestimiento epitelial del útero de *A. cyclophora* ejerce una función lubricante que, junto con el movimiento ciliar y la contracción muscular, facilitaría el desplazamiento de la cápsula hacia el seno urogenital.

CAPÍTULO 4

Estimación de parámetros reproductivos de *Atlantoraja cyclophora*

Introducción

La estimación de los parámetros reproductivos que caracterizan a las poblaciones de peces, permite acceder a rasgos de la historia de vida de las especies, que se utilizan como indicadores de su vulnerabilidad (Frisk *et al.*, 2002) (véase *Cap. 1: Introducción general*). Asimismo, este conocimiento ayuda a recopilar la información necesaria para una evaluación de stocks adecuada y sostenible (Musick, 2005). Por lo tanto, la determinación de parámetros morfométricos, la estimación de talla y edad de madurez sexual, fecundidad y el ciclo reproductivo de las especies, es información crucial para desarrollar estrategias de manejo responsable que permitan asegurar la conservación de los recursos pesqueros (Leonard *et al.*, 1999; Musick, 2005).

A partir de la estimación de las relaciones entre diversas variables morfométricas, se obtienen parámetros que dan información acerca del tamaño, el estado fisiológico, las características fenotípicas y reproductivas de los individuos. Este conocimiento es de gran utilidad, ya que permite analizar posibles cambios temporales entre individuos dentro de una misma población y al mismo tiempo evaluar las variaciones espaciales, en individuos de una misma especie (Pauly, 1984; Frisk *et al.*, 2006; Ebert *et al.*, 2008). Asimismo, mediante los estudios de edad y crecimiento, es posible definir la longevidad de las especies y determinar la composición de edades de cada clase de talla, lo que permite estimar las tasas de mortalidad.

La madurez de los individuos implica que sus órganos sexuales y gametas se encuentren completamente desarrollados y preparados para el apareamiento y la fertilización. En el caso de los elasmobranquios, al igual que en teleósteos, la madurez de los individuos se determina mediante la observación directa de los órganos reproductivos y la validación histológica, siguiendo criterios establecidos a través de las escalas de madurez (Conrath, 2005; Colonello *et al.*, 2007a; Serra Pereira *et al.*, 2011b). Una vez que los individuos alcanzan la madurez sexual durante su ciclo de vida, pasan a formar parte del stock reproductor dentro de la población. La talla de madurez generalmente se determina analizando el crecimiento de los órganos reproductivos y la apariencia de los caracteres sexuales secundarios, en relación con la longitud. Dicha información se utiliza para estimar la longitud media de madurez sexual (LT_{50}), que

corresponde a la longitud a la cual el 50% de la población se halla sexualmente madura.

La fecundidad de las especies de elasmobranquios se determina contando el número de folículos, embriones (vivíparas) o cápsulas coriáceas (ovíparas) presentes en los úteros, o mediante el recuento de folículos en desarrollo dentro de los ovarios. Sin embargo, estos métodos pueden ser pocos fiables, debido a que el conteo de huevos o embriones uterinos puede conducir a una subestimación de la fecundidad ovárica (falla reproductiva durante la gestación). Por el contrario, el recuento de folículos ováricos puede llevar a una sobreestimación, dado que en este caso no se considera la posible atresia folicular o aborto de embriones (Conrath, 2005).

El ciclo reproductivo se determina mediante la evaluación de las variaciones estacionales de los diferentes estadios de los órganos reproductivos y a partir de la presencia-ausencia de hembras preñadas a lo largo del año. El uso de indicadores indirectos como el índice gonadosomático, que relaciona el incremento en peso de las gónadas respecto al peso total ($IGS = \text{peso gonadal} / \text{peso total} * 100$), brinda información sobre la periodicidad de la reproducción y la temporalidad del apareamiento, cuando el IGS alcanza su valor más alto (Jons y Miranda, 1997; Conrath, 2005).

En poblaciones sometidas a explotación comercial, es importante establecer la edad y/o talla a la que los peces alcanzan su madurez sexual, así como también, el momento y lugar de la reproducción. Realizar estudios sobre el ciclo reproductivo de las especies, permite conocer el comportamiento de los individuos durante este proceso biológico. Esto aporta elementos de juicio para poder hacer una adecuada evaluación de stocks y al mismo tiempo, permitirá contar con información para la adopción de medidas de gestión pesquera (Bonfil, 2005; Musick, 2005).

Los objetivos del presente capítulo fueron:

- analizar la distribución de tallas y estimar las relaciones morfométricas para ambos sexos;
- definir el periodo reproductivo de la especie a partir de las variaciones morfológicas de los órganos reproductivos y la producción de óvulos durante el ciclo anual;
- analizar la variación temporal del proceso madurativo a partir de los índices gonadosomático y hepatosomático;
- estimar la longitud de primera madurez sexual para ambos sexos a través de observaciones macroscópicas de los órganos reproductivos.

Análisis de los datos

Para el estudio de los parámetros reproductivos de *A. cyclophora* se analizaron en total 974 ejemplares, 488 machos y 486 hembras, provenientes de campañas de

investigación y de la captura comercial (Tabla 4.1). Se testearon los supuestos de normalidad y homocedasticidad para todo el conjunto de datos mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. En los casos donde se detectaron desviaciones de los supuestos y/o no hubo una relación entre media-varianza para aplicar una transformación, se utilizó una prueba no paramétrica (Zar, 1999). Se analizó la proporción de sexos mediante la prueba de *Chi-cuadrado* y se comparó la distribución de frecuencias de tallas entre los sexos, mediante el test de Kolmogorov-Smirnov (Zar, 1999). Se estimaron las relaciones morfométricas entre longitud total (LT)-ancho de disco (AD), LT-peso total (PT) y LT-peso del hígado (PH) para ambos sexos. Para esto, se realizó la transformación logarítmica de las variables x e y de la ecuación alométrica $y=ax^b$, para obtener la expresión lineal entre las variables: $\log(y)=\log(a)+b\log(x)$ (Sokal y Rohlf, 1999) y se testeó la hipótesis nula de igualdad de pendientes entre sexos mediante ANCOVA (Zar, 1999). Mediante la prueba de *t-Student*, se testeó, para cada sexo, la hipótesis nula de crecimiento isométrico y se comparó el valor del coeficiente b con el valor teórico $b=3$ (Sokal y Rohlf, 1999; Froese, 2006).

Se analizó el inicio de la madurez sexual de los individuos mediante los cambios en el desarrollo de los órganos reproductivos. Se graficaron para cada sexo, discriminando por estadio sexual, los valores del largo interno de los *claspers* (LIC), del peso testicular (PG) (mediante el índice gonadosomático, $IGS=PG/PT*100$), del número de filas de espinas alares (Esp), del ancho de las glándulas oviductales (AGO), del ancho de los úteros (AU) y del peso ovárico (PO), todos ellos en función de la LT. Adicionalmente, se estimó la longitud media de madurez sexual (LT_{50}) (LT a la cual el 50% de la población alcanza la madurez sexual), para ambos sexos, ajustando una curva logística a las proporciones de individuos maduros por clases de talla, mediante el método de máxima verosimilitud (Roa *et al.*, 1999). Asimismo, se evaluó la hipótesis nula de igualdad de la LT_{50} entre sexos mediante la prueba de *t-Student* (Aubone y Wöhler, 2002).

Con el fin de evaluar la simetría y funcionalidad de los ovarios en hembras adultas, se testeó la hipótesis nula de igualdad en el peso gonadal, mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras de a pares (estadístico: $T(+)=D_i=(X_i-Y_i)>0$; Infostat, 2008). Asimismo, se testeó la hipótesis nula de igualdad en diámetro máximo folicular (DMF) y se comparó el ancho y largo de las cápsulas coriáceas intrauterinas, izquierda y derecha, mediante la prueba de *t-Student* de a pares, para ambos casos (Sokal y Rohlf, 1999). Se evaluó, también, la existencia de cambios temporales en la condición reproductiva de los individuos adultos. Para ello, se utilizaron como indicadores indirectos el índice gonadosomático y hepatosomático ($IHS=PH/PT*100$), para los adultos de ambos sexos. Los cambios temporales de IGS, IHS, AGO y DMF de individuos adultos se analizaron mediante ANOVA, bajo la hipótesis nula de ausencia de diferencias estacionales. Cuando se hallaron diferencias significativas, las mismas se evaluaron con la prueba de Tukey (Zar, 1999). En los casos donde no se cumplió con los

supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Zar, 1999).

Los datos se procesaron mediante los software estadísticos Infostat (2008) y R versión 3.3.1 (2016).

Tabla 4.1. Número de individuos analizados de *Atlantoraja cyclophora* provenientes de campañas de investigación realizadas por el INIDEP y de la captura comercial.

INVESTIGACIÓN							COMERCIAL				
Año	Campaña	Mes	Machos		Hembras		Machos		Hembras		Total
			Adulto	Juvenil	Adulto	Juvenil	Adulto	Juvenil	Adulto	Juvenil	
2002	OB-0302	Mar		7	5	9					21
	EH-0302	Ago		1		2					3
2003	OB-0403	May	3	11	2	7					23
	EH-0603	Dic	6	15	2	11					34
2004	EH-0504	Jul	1	9		3					13
2005	OB-0705	Ago	3	7	6	6					22
	EH-0805	Nov	10	49	8	51					118
2006	CC-0106	Feb	2	7	1	9					19
	Comercial	Mar					1			3	4
	EH-0406	May					31		21	5	57
	Letare	Jun	3	9	2	18					32
	S. Antonino III	Ago					13	8	21	9	51
	OB-0506 /	Sep	14	10	6	12					
	S. Antonino III						35	21	44	23	165
	Rigel	Nov					9	11	6	6	32
	Rigel	Dic					27	10	18	2	57
2007	S. Antonino III	Ene					5	12	4	20	41
	S. Antonino III	Feb					1	12		12	25
	S. Antonino III	Mar					5	4	6	4	19
	Letare	Abr					13	4	7	5	29
	Rigel	May					6	15	4	19	44
	Rigel	Jul					7	10	10	21	48
	S. Antonino III	Ago					5	11	6	13	35
	Letare	Oct						19		15	34
	Rigel	Nov					15	9	8	5	37
	Bonfiglio	Dic						2	1	1	4
Total			42	125	32	128	173	148	156	163	967

Tabla 4.2. Parámetros reproductivos registrados para individuos juveniles y adultos de *Atlantoraja cyclophora*, expresados en rangos (media \pm d.e). Referencias: LT: longitud total (mm); LCint: largo interno del clasper (mm); EA: espinas alares (nº de filas); PG: peso testicular (g); AGO: ancho de glándula oviductal (mm); AU: ancho de útero (mm); PO: peso ovárico (g) y n: tamaño de la muestra.

MACHOS									
Estadio		LT	n	LCint	n	EA	n	PG	n
Juvenil	1	190 – 551 (390,2 \pm 79,1)	163	15 – 130 (46,3 \pm 20,7)	143	0 – 1 (0,6 \pm 0,5)	6	0,2 – 5 (2,1 \pm 1,2)	42
	2	285 – 604 (495 \pm 658,7)	110	42 – 178 (98,3 \pm 41,1)	78	0,5 – 3,4 (1,4 \pm 0,6)	41	0,6 – 14 (4,7 \pm 3,3)	43
Adulto	3	490 – 674 (589,7 \pm 35,2)	215	140 – 215 (174,6 \pm 12,6)	167	1,2 – 5 (2,5 \pm 0,7)	140	3 – 17 (9,3 \pm 2,7)	144
HEMBRAS									
Estadio		LT	n	AGO	n	AU	n	PO	n
Juvenil	1	135 – 592 (417,5 \pm 83,5)	210	1 – 23 (5,0 \pm 4,7)	91	1 – 11 (2,8 \pm 1,6)	125	0,4 – 10 (3,2 \pm 2,1)	62
	2	267 – 650 (497,8 \pm 97,5)	81	2 – 28 (13,3 \pm 8,8)	41	1 – 9 (5,7 \pm 4,2)	53	0,6 – 13 (5,1 \pm 3,4)	30
Adulto	3	480 – 709 (619,6 \pm 38,4)	127	18 – 39 (30,3 \pm 4,6)	98	7 – 32 (15,2 \pm 4,8)	84	0,6 – 13 (5,1 \pm 3,4)	53
	4	525 – 675 (631,4 \pm 24,4)	61	20 – 45 (33,2 \pm 5,1)	47	-	-	18,2 – 76 (42,2 \pm 15,1)	26

Tabla 4.3. Rango de tallas (mm) y talla de madurez sexual (L_{t50} , mm) de *Atlantoraja cyclophora*, registradas para diferentes zonas, dentro de su área de distribución. Referencias: H: hembras, M: machos, n: número de individuos muestreados, TM: talla máxima (mm). Referencias bibliográficas: (a) Oddone *et al.* (2008), (b) Oddone, Vooren (2004) (2005), (c) Estalles *et al.* (2011), (d) Bernasconi, 2018.

Área de estudio	Sexo	Rango de talla	L_{t50}	L_{t50}/TM	n
23°37'S - 27°40'S Sureste de Brasil	M ^(a)	133 - 585	463	79,1	396
	H	115 - 680	532	78,2	401
30°40'S - 34°30'S Sur de Brasil	M ^(b)	287 - 635	485	76,4	214
	H	235 - 645	528	82,5	245
34° - 42°S Distrito Bonaerense	M	190 - 674	537	79,7	488
	H	135 - 709	570	80,4	486
41-42°S - 64-65°O Golfo San Matías	M ^(c)	360 - 620	530	85,5	183
	H	340 - 690	590	85,5	299
	M ^(d)	320 - 650	541	83,3	282
	H	320 - 690	567	82,2	266

Resultados

Composición de la muestra

Se determinó el estadio de madurez sexual en 967 ejemplares del total analizado (Tabla 4.1). La muestra se compuso por un 58,3% de juveniles y un 41,7% de adultos. La proporción de sexos no difirió de la relación 1:1 para la muestra en general ($n=974$, $\chi^2=0,01$, $p=0,44$) y tampoco entre estadios (juveniles: $n=564$; $\chi^2=0,57$; $p=0,45$; adultos: $n=403$; $\chi^2=1,80$; $p=0,17$).

Distribución de tallas y relaciones morfométricas

Los rangos de talla registrados para la totalidad de la muestra fueron de 190 a 674 mm LT para los machos y de 135 a 709 mm LT para las hembras (Figura 4.1). Se hallaron diferencias significativas en la distribución de frecuencia de tallas entre sexos ($KS=0,16$; $n=974$; $p=0,01$), siendo notoria una mayor frecuencia de machos entre los 500 y 600 mm LT y de hembras a partir de los 600 mm LT (Figura 4.1).

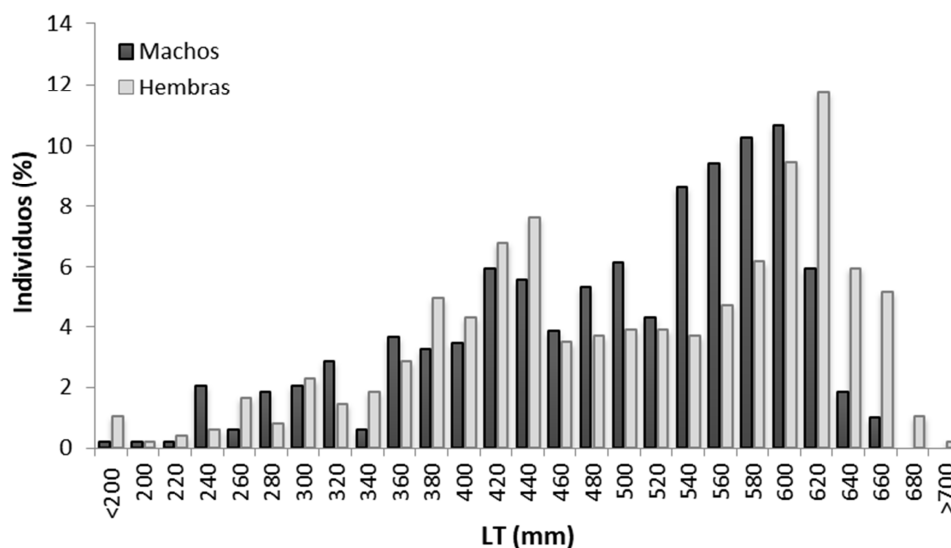


Figura 4.1. Distribución de la frecuencia de tallas de machos ($n=488$) y hembras ($n=486$) de *Atlantoraja cyclophora*.

Se hallaron diferencias significativas en las relaciones LT-AD (ANCOVA: $F_{(1, 869)}=12,74$; $p<0,0001$) y LT-PT (ANCOVA: $F_{(1, 877)}=9,42$; $p<0,0001$) (Figuras 4.2a y 4.2b). Las hembras resultaron ser más anchas y pesadas que los machos. Este dimorfismo se observó a partir de los 290 mm LT para ambos casos, pero fue más evidente en individuos mayores a 500 mm LT. El análisis de las relaciones LT-PH evidenció que el hígado de las hembras resultó significativamente más pesado que el de los machos (ANCOVA: $F_{(1, 721)}=16$; $p<0,0001$) (Figura 4.2c).

Respecto a la comparación de los valores del coeficiente b , se observó que los machos crecieron isométricamente ($b=3,03$; g.l.=444; $t=1,41$; $p=0,15$), mientras que las hembras presentaron un crecimiento alométrico positivo ($b=3,16$; g.l.=433; $t=8,26$; $p<0,0001$), incrementando su peso en mayor proporción que su largo (Figura 4.2b).

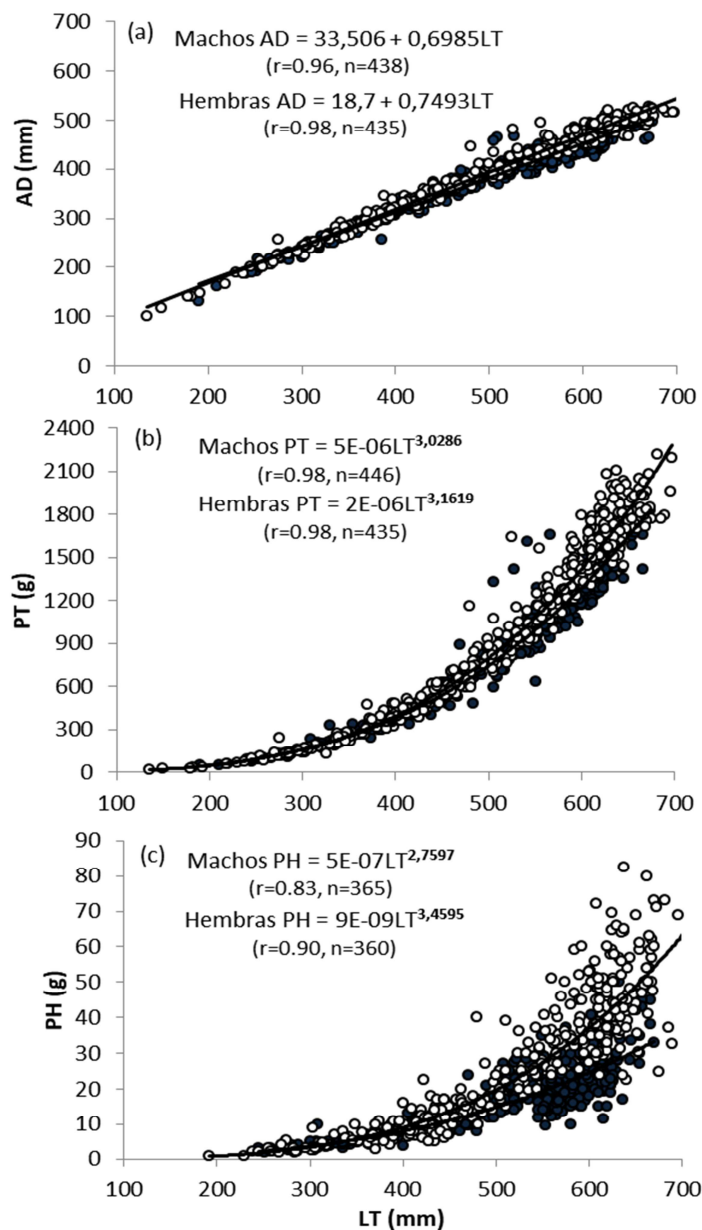


Figura 4.2. Relación entre la longitud total (LT) y **(a)** ancho de disco (AD); **(b)** peso total (PT) y **(c)** peso del hígado (PH) de machos (círculos oscuros) y hembras (círculos blancos) de *Atlantoraja cyclophora*.

Desarrollo de los órganos reproductivos y estimación de la talla media de madurez (LT₅₀) - Machos

La longitud de los *claspers* se incrementó de forma lineal en función de la LT, considerando cada estadio por separado (Figura 4.3a). Para ejemplares entre 500 y 550 mm LT dicho incremento resultó más abrupto. Del mismo modo, el número de filas de espinas alares se incrementó a partir de los 500 mm LT (Figura 4.3b). Por el contrario, el IGS no reflejó una tendencia clara para el desarrollo testicular en función de la LT (Figura 4.3c).

La LT₅₀ de los machos se estimó en 537 mm LT (IC 95%; 425,6 ≤ LT₅₀ ≤ 649,2) que corresponde al 79,7% de la talla máxima observada (Figura 4.3d).

El rango de tallas entre el adulto más pequeño y el juvenil más grande fue 490 – 604 mm LT. Todos los machos mayores a 604 mm LT fueron adultos, con una longitud de los *claspers* superior a 178 mm, número de filas de espinas alares mayor a 2 y peso testicular mayor a 14 g (Tabla 4.2).

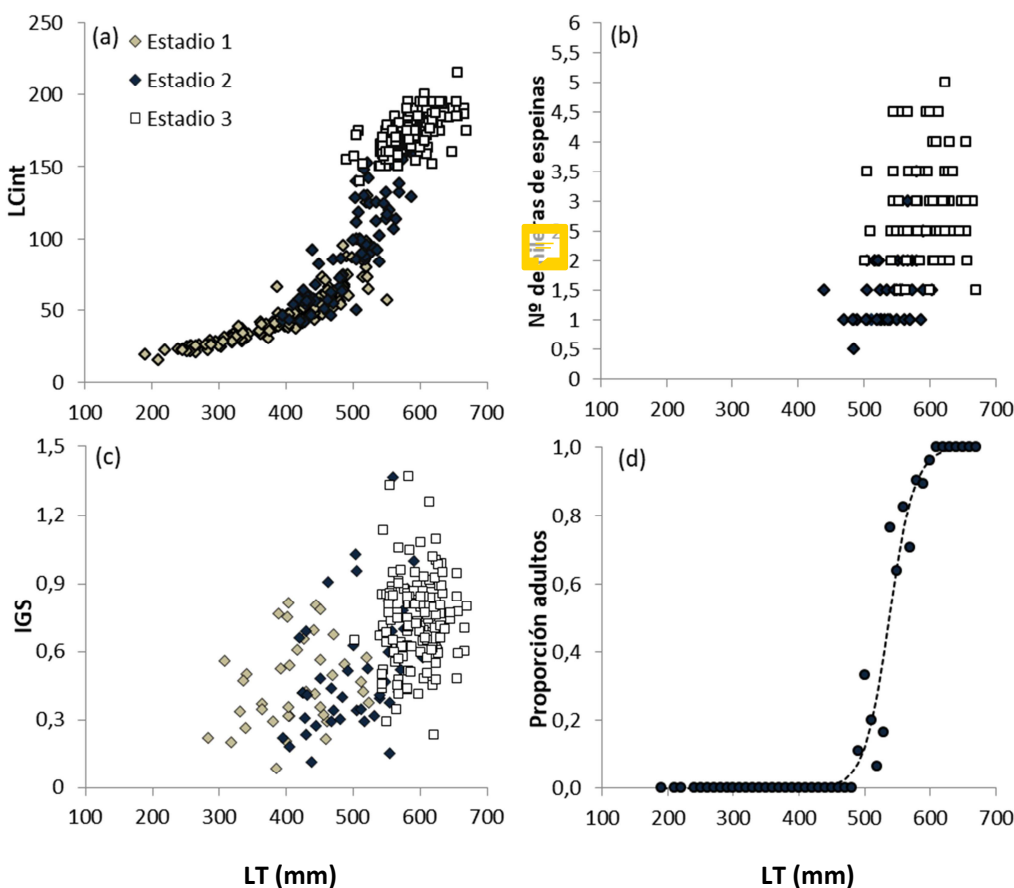


Figura 4.3. Relación entre la longitud total (LT) y los órganos reproductivos de machos de *Atlantoraja cyclophora*, conforme al estadio de madurez. **(a)** Largo interno del clasper (LCint, mm). **(b)** Número de filas de espinas alares. **(c)** Índice gonadosomático (IGS). **(d)** Proporción de machos adultos.

Hembras

A partir del análisis macroscópico de los órganos reproductivos, se observó que ambos ovarios se desarrollan simultáneamente y son igualmente funcionales. No se hallaron diferencias significativas entre el peso de los ovarios derecho e izquierdo ($T(+)=1468,00$; $n=171$; $p=0,58$) ni en el diámetro máximo folicular ($t=1,24$; $g.l.=38$; $p=0,22$) entre ambas gónadas en las hembras adultas.

Tanto el ancho de la glándula oviductal como el del útero, se incrementaron de forma gradual con respecto a la LT (Figuras 4.4a y 4.4b), haciéndose notorio entre los 520 y 550 mm LT, para ambos parámetros. No hubo diferencias en el patrón de crecimiento de ambos órganos entre ejemplares de estadio 1 y 2. El IGS reflejó que el desarrollo de los ovarios ocurre abruptamente, con un incremento en el peso a partir de los 550 mm LT (Figura 4.4c).

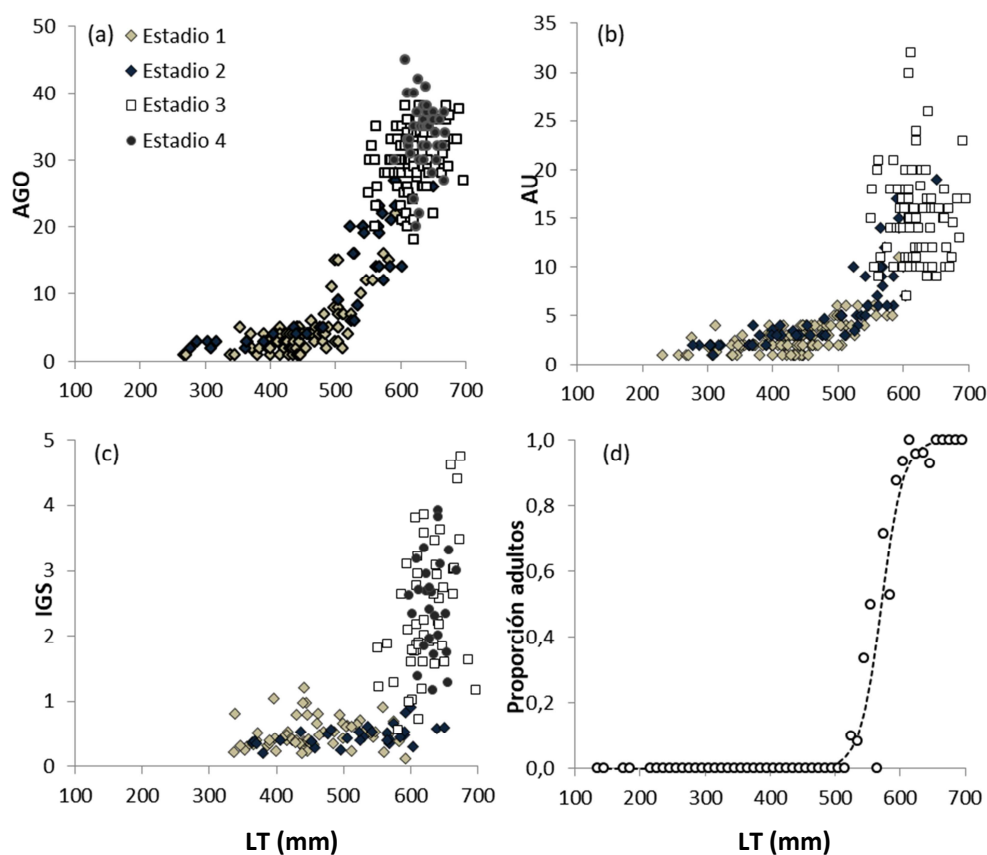


Figura 4.4. Relación entre la longitud total (LT) y los órganos reproductivos de hembras de *Atlantoraja cyclophora*, conforme al estadio de madurez. **(a)** Ancho de glándula oviductal (AGO, mm). **(b)** Ancho de útero (AU, mm). **(c)** Índice gonadosomático (IGS). **(d)** Proporción de hembras adultas.

La LT_{50} de las hembras se estimó en 570 mm LT (IC 95%; $436,9 \leq LT_{50} \leq 704,8$) y corresponde al 80,4% de la talla máxima observada (Figura 4.4d). Este valor fue

significativamente mayor a la LT_{50} estimada para los machos ($t=17,56$; g.l.=1; $p<0,0001$).

El rango de tallas entre la hembra adulta más pequeña y la juvenil más grande fue 525 – 650 mm LT. Todas las hembras mayores a 650 mm LT fueron adultas, con un ancho de glándula oviductal mayor a 27 mm, ancho de útero mayor a 10 mm y peso ovárico mayor a 23 g (Tabla 4.2).

Ciclo reproductivo - Machos

Los machos adultos presentaron diferencias significativas en los valores medios del IGS (ANOVA: $F_{(9, 129)}=2,39$; $p=0,01$), entre los meses noviembre y diciembre (Figura 4.5a). A pesar de estas diferencias, el IGS no arrojó evidencias claras de una variación estacional en actividad reproductiva. Asimismo, se hallaron diferencias significativas en los valores del IHS mensuales ($H=46,76$; g.l.=9; $p<0,0001$), el cual se incrementó en los meses de enero y febrero (Figura 4.5b).

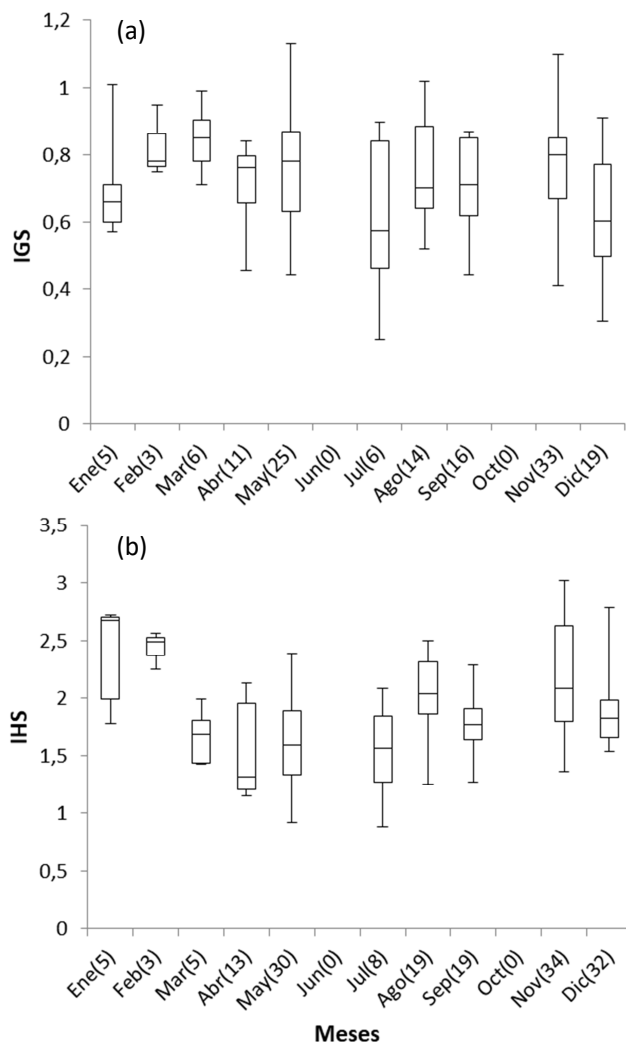


Figura 4.5. Variación estacional del (a) índice gonadosomático (IGS) y (b) hepatosomático (IHS) de machos adultos de *Atlantoraja cyclophora*. Entre paréntesis

se indica el número de muestras analizadas. Las cajas representan el rango intercuartil entre Q1 y Q3, con el 50% de los datos, la línea central representa el valor medio y los brazos se extienden desde el valor máximo al mínimo.

Hembras

En hembras adultas, se detectaron variaciones estacionales en los valores medios del IGS (ANOVA: $F_{(8, 66)}=2,85$; $p=0,008$) e IHS ($H=38,47$; g.l.=8; $p<0,0001$) (Figuras 4.6a y 4.6b).

El valor medio más alto del IGS se detectó en diciembre y difirió del resto de los meses, excepto julio y noviembre. El IHS siguió un patrón similar al de los machos, registrando los valores mínimos en abril y máximos en noviembre.

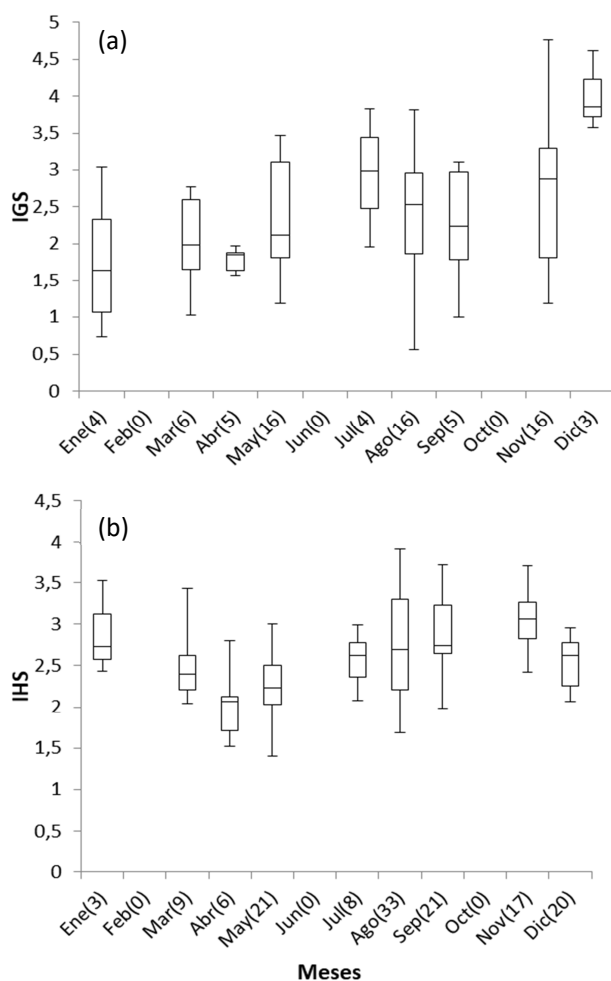


Figura 4.6. Variación estacional del (a) índice gonadosomático (IGS) y (b) hepatosomático (IHS) de hembras adultas de *Atlantoraja cyclophora*. Entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Las cajas representan el rango intercuartil entre Q1 y Q3, con el 50% de los datos, la línea central representa el valor medio y los brazos se extienden desde el valor máximo al mínimo.

El DMF varió entre 13 y 40 mm, con una moda en 26 mm, tanto en hembras con cápsulas, como sin ellas. Se pudieron identificar macroscópicamente 3 grupos diferentes de talla folicular máxima: uno entre 13 y 24 mm, otro entre 25 y 34 mm (el más frecuente) y un tercero entre 35 y 40 mm (el menos frecuente) (Figura 4.7a). Probablemente, este último grupo represente la talla cercana a la ovulación. Aunque no fue posible registrar la talla folicular en todas las hembras adultas analizadas, se observó que las hembras con folículos mayores a 34 mm de diámetro estuvieron presentes en marzo y de julio a noviembre.

Se hallaron hembras grávidas durante los meses muestreados, excepto enero, febrero y junio (Figura 4.7b). No se hallaron diferencias significativas en el AGO (ANOVA: $F_{(9,134)}=1,23$; $p=0,28$) y el DMF (ANOVA: $F_{(7,36)}=1,24$; $p=0,30$) a lo largo del año (Figuras 4.8a y 4.8b). Sin embargo, este último registró valores bajos en el mes de abril (Figuras 4.8b).

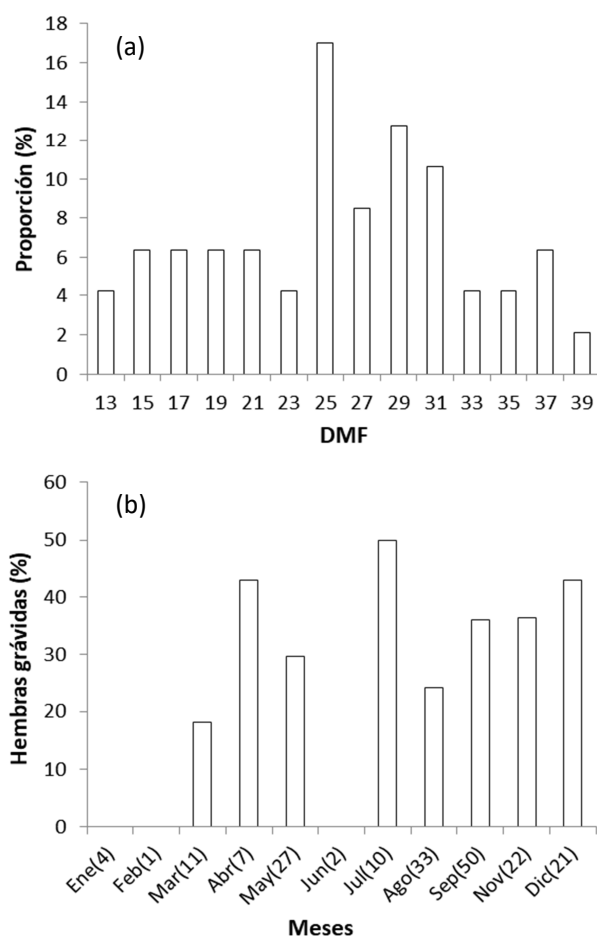


Figura 4.7. (a) Distribución de frecuencias del diámetro máximo folicular (DMF) en hembras maduras de *Atlantoraja cyclophora*. **(b)** Variación estacional de la proporción de hembras de *A. cyclophora* con huevos en los úteros. Entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.

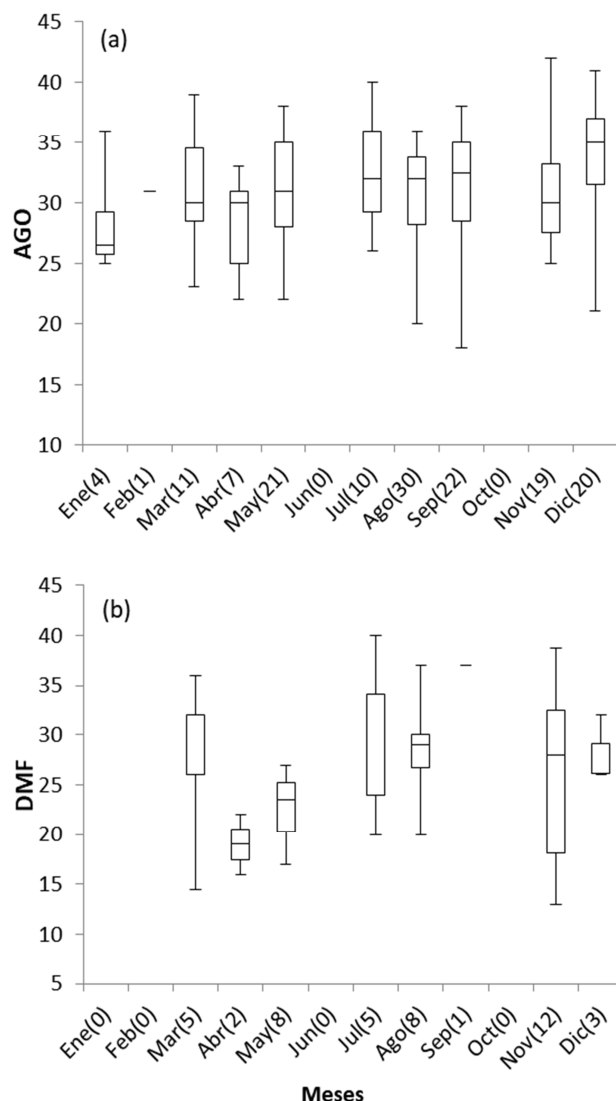


Figura 4.8. Variación estacional del **(a)** ancho de la glándula oviductal (AGO) y **(b)** diámetro máximo folicular (DMF) de hembras adultas de *Atlantoraja cyclophora*. Entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas. Las cajas representan el rango intercuartil entre Q1 y Q3, con el 50% de los datos, la línea central representa el valor medio y los brazos se extienden desde el valor máximo al mínimo.

Cápsulas coriáceas

Se midieron el largo y el ancho de 36 cápsulas coriáceas en total. No se hallaron diferencias significativas en el largo ($t=-1,01$; g.l.=15; $p=0,326$) ni en el ancho ($t=-0,39$; g.l.=15; $p=0,696$) de las cápsulas izquierda y derecha. El largo de las cápsulas varió entre 63 y 77 mm ($71,4 \pm 3,15$) y el ancho entre 40 y 48 mm ($43,9 \pm 2,12$).

Discusión

El dimorfismo sexual secundario en el tamaño y la forma corporal ha sido reportado en muchas especies de rayas (Ruocco *et al.*, 2006; Colonello *et al.*, 2007a, 2012; Ebert *et al.*, 2008a, 2008b). Todas las especies del género *Atlantoraja* son sexualmente dimórficas en cuanto a las relaciones morfométricas LT-AD y LT-PT, siendo las hembras más anchas y pesadas que los machos, para una misma longitud (Oddone y Vooren, 2004; Oddone y Amorim, 2007; Coller *et al.*, 2011; Colonello *et al.*, 2012). También es común en este género, que dicho dimorfismo comience en individuos inmaduros (Oddone y Amorim, 2007; Coller *et al.*, 2011). En este trabajo, se detectó un cambio en la morfología de los individuos de *A. cyclophora* alrededor de 290 mm LT. El carácter dimórfico en el ancho del disco, estaría asociado a aspectos morfológicos ya que se desconocen las implicancias ecológicas o fisiológicas que podría poseer dicho dimorfismo (Ebert *et al.*, 2008). Por su parte, las variaciones detectadas en el peso, concuerdan con el crecimiento alométrico positivo observado para las hembras, en este trabajo y por Oddone y Amorim (2007) en el Distrito Sudbrasileño. Sin embargo, el incremento en el peso de las hembras fue considerable a partir de 500 mm LT, acorde con el inicio de la madurez sexual. Esto podría estar asociado a una mejor condición física, necesaria para afrontar los costos energéticos que implica la reproducción (Walmsley-Hart *et al.*, 1999; Colonello, 2009). Del mismo modo, el dimorfismo en la relación LT-PH podría asociarse a los requerimientos energéticos durante la fase reproductiva. El hígado de las hembras almacena grandes cantidades de lípidos durante la fase pre vitelogénica del ciclo reproductivo (Hamlett y Koob, 1999; Prisco *et al.*, 2002b). Por lo tanto, el aumento del peso del hígado en hembras adultas (mayores a 500 mm LT), en comparación con los machos adultos, estaría relacionado con una mayor inversión energética durante la madurez sexual (Mabragaña *et al.*, 2002; Colonello *et al.*, 2012).

El dimorfismo sexual, tanto en las longitudes máximas como en las tallas de madurez, también ha sido registrado en varias especies de condriictios (Mabragaña *et al.*, 2002; Ungaro, 2004; McFarlane y King, 2006; Oddone *et al.*, 2007; Ebert *et al.*, 2008; Colonello *et al.*, 2016; Chierichetti *et al.*, 2017). En las especies vivíparas, las hembras pueden alcanzar longitudes totales máximas y tallas de madurez que superan las de los machos (Cortés, 2000). Se presume que un aumento de tamaño en la hembra, incrementa su capacidad para llevar un número mayor de crías o embriones de mayor tamaño (Conrath, 2005). En algunas especies vivíparas, existe una correlación positiva entre la fecundidad y el tamaño de la hembra (Hanchet, 1988; Peres y Vooren, 1991; Capapé *et al.*, 2005). Sin embargo, en las especies ovíparas, este dimorfismo sexual es variable. En los géneros *Psammobatis* y *Bathyraja*, los machos pueden exceder o igualar las tallas de las hembras y también pueden alcanzar la madurez sexual con longitudes mayores (Braccini y Chiaramonte, 2002; Mabragaña y Cousseau, 2004; Ebert, 2005; San Martín *et al.*, 2005; Perier *et al.*, 2010). En el caso de

A. cyclophora y otras especies de rayas (Ebert, 2005; Oddone *et al.*, 2007; Colonello *et al.*, 2007b, 2012; Paesch y Oddone, 2008), las hembras alcanzan longitudes máximas y tallas de madurez mayores que los machos. Cualquiera sea el caso, el tamaño corporal de las hembras no sería una característica que limite la fecundidad, debido al desarrollo secuencial de folículos ováricos y a la capacidad de producir huevos a lo largo del año (Colonello, 2009).

En los elasmobranchios con amplia distribución geográfica, una misma especie puede mostrar un incremento en algunos de los parámetros de su historia de vida, acorde con un aumento en la latitud (Templeman, 1987; Chiaramonte y Pettovello, 2000; Yamaguchi *et al.*, 2000; Frisk y Miller, 2006; Colonello *et al.*, 2007c). Existen muchas hipótesis para explicar este hecho; por ejemplo, estas variaciones podrían ser una consecuencia del resultado de la plasticidad fenotípica (Licandeo y Cerna, 2007) y/o de las condiciones oceanográficas, el efecto de la presión pesquera, entre otros (Mabragaña y Cousseau, 2004). La longitud máxima y la LT_{50} registradas aquí concuerdan con esta tendencia, ya que fueron similares a las reportadas previamente en las aguas del norte de la Patagonia (Estalles *et al.*, 2011; Bernasconi, 2018) y mayores que las registradas para individuos del Distrito Sudbrasileño (Oddone y Vooren, 2005; Oddone *et al.*, 2008) (Tabla 4.3). Por lo tanto, es importante considerar esta variabilidad cuando se realizan evaluaciones de especies de amplia distribución.

En este trabajo, se observó que la relación entre el largo interno de los *claspers*, junto con el aumento en el número de espinas alares en función de la longitud total, fueron los mejores parámetros macroscópicos que representaron el inicio de la madurez sexual en los machos, la cual ocurre entre 500 y 550 mm LT. También, se determinó que la madurez sexual en las hembras comenzaría entre 520 y 550 mm LT, basado en la variación del ancho de los úteros y de las glándulas oviductales, en función de la longitud total. Por otro lado, la LT_{50} estimada, representa aproximadamente el 80% de la longitud total máxima. Esta proporción, concuerda con lo reportado por otros autores para esta especie (Oddone y Vooren, 2005; Oddone *et al.*, 2008; Estalles *et al.*, 2011; Bernasconi, 2018) y tiene implicancias respecto a la extensión del periodo de tiempo que destinan los individuos al crecimiento y la actividad reproductiva. Mediante estimaciones de edad y crecimiento realizadas para ejemplares de *A. cyclophora* del Golfo San Matías, se reportó para las hembras una edad de madurez de 7 años y una longevidad máxima estimada de 12 años, siendo la edad máxima observada de 10 años (Bernasconi, 2018). En conjunto, de estos resultados se desprende que los individuos de *A. cyclophora* presentan un etapa juvenil extendida y que una vez alcanzada la talla y edad de madurez sexual, la mayor parte de la energía del individuo sería destinada a la reproducción y la misma estaría concentrada entre 3 y 5 temporadas reproductivas.

Según la distribución de frecuencias del DMF registrada en este trabajo, los folículos con tamaños mayores de 34 mm de diámetro podrían considerarse como preovulatorios. Esta talla resultó ser mayor a la estimada para la especie en el distrito

Sudbrasileño (26 – 30 mm, Oddone y Vooren, 2005; Oddone *et al.*, 2008). Sin embargo, el tamaño de las cápsulas coriáceas de *A. cyclophora* examinadas en este trabajo, fue similar al registrado por Oddone *et al* (2004) en el sur de Brasil. Esto también podría ser una consecuencia de la latitud, ya que las especies que se encuentran a mayores latitudes (y consecuentemente menores temperaturas) presentan un metabolismo y un patrón de crecimiento más lento. Por lo tanto, la mayor cantidad de vitelo almacenada en los folículos, sería necesaria para sustentar un desarrollo embrionario más extenso. Sin embargo, hasta el momento no existen estudios sobre la fecundidad de *A. cyclophora* que permitan comprender mejor sus rasgos de historia de vida y características reproductivas.

De acuerdo con los resultados registrados en este trabajo, la falta de variación estacional en el DMF y el AGO y la ocurrencia de hembras con cápsulas en el útero durante la mayor parte del año, sugieren que *A. cyclophora* podría exhibir un ciclo reproductivo anual. Además, los valores máximos del IGS registrados en diciembre, indicarían un pico de actividad reproductiva durante la primavera (noviembre y diciembre), aunque sería apropiado corroborar estas conclusiones ampliando los muestreos en dicha estación del año. Por su parte, Oddone y Vooren (2005) y Oddone *et al* (2008), hallaron resultados similares para la misma especie en el Distrito Sudbrasileño. Oddone *et al* (2008), propusieron para *A. cyclophora* un ciclo reproductivo anual, con ligeras variaciones estacionales en la actividad reproductiva, principalmente entre abril y julio, debido a una mayor proporción de hembras con huevos registrada para ese periodo (Oddone *et al.*, 2008). Los picos estacionales en la actividad reproductiva, han sido registrados en distintas especies de rayas del Océano Atlántico Sudoccidental, como *S. bonapartii* (Mabragaña *et al.*, 2002); *P. extenta* (Braccini y Chiaramonte 2002); *P. bergi* (San Martín *et al.*, 2005); *A. castelnaui* (Collonelo *et al.*, 2012); *R. agassizi* (Colonello *et al.*, 2007b; Oddone *et al.*, 2007). Las mismas, habitan aguas costeras (profundidades menores a 50 m) y cálidas (6 y 20°C), donde las temperaturas y el fotoperiodo pueden afectar la tasa de puesta de huevos (Colonello, 2009). Por otro lado, la falta de estacionalidad reproductiva ha sido observada en especies del género *Bathyraja* (Ruocco *et al.*, 2006; Scenna, 2011), las cuales habitan aguas más profundas con menor variabilidad ambiental. Debido a su ubicación geográfica dentro del área de estudio (mayor a 25 m, 13,6°C de temperatura media; Jaureguizar *et al.*, 2006; Menni y Stehmann, 2000), *A. cyclophora* podría tener un patrón reproductivo mixto, entre costero y de altura. En cuanto al IGS registrado en los machos, el mismo no arrojó evidencias claras de una variación estacional en actividad reproductiva. Esto concuerda también, con los resultados reportados para los especímenes del Distrito Sudbrasileño (Oddone *et al.*, 2008) y establece la posibilidad de que los machos produzcan esperma durante todo el año. Sin embargo, en este trabajo se registró la presencia de esperma almacenado en la vesícula seminal, en los individuos analizados a nivel histológico, (véase Cap. 3: *Morfología de los órganos reproductivos de Atlantoraja cyclophora*). El almacenamiento espermático, sería una

condición necesaria en especies que no poseen producción continua de esperma a lo largo del año y el mismo, estaría adecuado a la época de apareamiento (Hamlett *et al.*, 1999b; Jones *et al.*, 2005). Si bien los resultados hallados aquí podrían implicar un almacenamiento a corto plazo, se requiere de estudios histológicos estacionales complementarios, que proporcionen una estimación de la producción espermática y de la época de apareamiento de dicha especie. Por su parte, las variaciones registradas en el IHS para ambos sexos, reflejan los cambios en el almacenamiento y transferencia energética vinculados con el esfuerzo reproductivo y la alimentación.

En resumen, los resultados obtenidos en este trabajo fueron consistentes con los reportados para esta especie en poblaciones del Distrito Sudbrasileño (Oddone y Vooren, 2005; Oddone y Amorim, 2007; Oddone *et al.*, 2008) y sugieren que el patrón de desarrollo sexual y morfométrico de *A. cyclophora* sería similar entre ambas regiones.

CAPÍTULO 5

Distribución espacial y abundancia de *Atlantoraja cyclophora* en relación con las características ambientales

Introducción

Los Batoideos se encuentran adaptados a una amplia gama de ecosistemas marinos, con algunos representantes de agua dulce (*Potamotrygonidae* y *Pristidae*) (McEachran y Fechtel, 1998; Rosa *et al.*, 2010). Habitan tanto regiones litorales como abisales, siendo predominantes en zonas estuarinas, costeras y de plataforma de poca profundidad (Frisk, 2010).

En el Océano Atlántico Sudoccidental, la temperatura, profundidad y latitud son las principales variables que influyen en la distribución espacial de los Condriktios (Menni y Stehmann, 2000). Las especies del ecosistema costero del Atlántico Sudoccidental, entre 34° - 41°S, que habitan en profundidades menores a 50 m, constituyen el Distrito Bonaerense de la Provincia Templada del Atlántico Sudoccidental (Menni y Stehmann, 2000; Menni *et al.*, 2010). En esta región, se distinguen dos ensambles principales, separados por una profundidad cercana a los 25 m: uno interno asociado a aguas templadas y de baja salinidad, donde predominan *M. schmitti*, *Z. brevirostris*, *M. goodei*, *S. acuta* y *S. bonapartii* y uno externo, asociado principalmente con aguas más frías y de mayor salinidad, que incluye a las especies *R. agassizi*, *A. castelnaui*, *S. acanthias*, *S. guggenheim* y *A. cyclophora* (Menni y Stehmann, 2000; Jaureguizar *et al.*, 2006).

Dentro del Distrito Bonaerense, *A. cyclophora* ha sido registrada entre los 42 y 89 m, con temperaturas de fondo entre 6,8 y 9,6°C (Menni y López, 1984). Durante investigaciones llevadas a cabo por el buque de investigación pesquera "Walther Herwig" (crucero de 1966) entre los 22°20' y 54°52'S, esta especie fue hallada entre los 40 y 200 m de profundidad, a una temperatura media del fondo de 13,6°C (Menni y Stehmann, 2000; Menni *et al.*, 2010). En el sureste de Brasil, *A. cyclophora* es capturada entre los 10 y 130 m de profundidad (Oddone y Amorim, 2007), mientras que en sur de Brasil, se distribuye hasta los 300 m de profundidad y predomina durante todo el año, sin fluctuaciones estacionales en la abundancia (Vooren, 1998; Oddone y Vooren, 2004). En esta última región, *A. cyclophora* junto con *Z. brevirostris*,

A. castelnaui, *R. agassizi*, *A. platana*, *S. acuta*, *M. goodei*, son consideradas especies dominantes (Vooren, 1997).

Dentro de las variables que determinan el uso de hábitat de los condricios, la temperatura, la salinidad y la profundidad pueden generar segregaciones sexuales y ontogenéticas, así como también, variaciones en la estacionalidad de la abundancia. Los cambios en la temperatura del agua constituyen una señal ambiental clave para desencadenar las migraciones estacionales y agregaciones locales de elasmobranquios (Jacoby *et al.*, 2012; Schlaff *et al.*, 2014). Los juveniles pueden concentrarse en aguas de baja profundidad y alta temperatura, definiendo áreas de cría, mientras que los adultos pueden ocupar áreas de mayor profundidad y realizar migraciones estacionales con fines alimenticios o reproductivos (Sims *et al.*, 2001; Mabragaña *et al.*, 2002; Mucientes *et al.*, 2009; Wearmouth y Sims 2010; Cortés, 2012; Elisio *et al.*, 2016). Las migraciones con fines reproductivos, son bastante comunes en los tiburones (Castro, 1993; Wearmouth y Sims 2010; Cortés, 2012; Elisio *et al.*, 2016), pero también existen evidencias dentro de los batoideos (Martin y Cailliet, 1988; Snelson *et al.*, 1988; Mabragaña *et al.*, 2002; Hunter *et al.*, 2005a, 2005b). Por ejemplo, en el Distrito Bonaerense, los individuos adultos de *S. bonapartii* realizan desplazamientos hacia aguas someras (menores a 50 m de profundidad) durante el verano, donde se encuentran las zonas de cría y puesta de huevos (Mabragaña *et al.*, 2002).

Los patrones en la distribución espacial también pueden estar definidos por el modo reproductivo de los organismos. En los elasmobranquios, las especies vivíparas presentan un rango de distribución geográfica mayor que las especies ovíparas (Goodwin *et al.*, 2005). Los vivíparas pueden moverse en rangos mayores debido a que los embriones dentro del útero se encuentran protegidos de los depredadores y de la escasez de recursos, mientras que los ovíparas limitan sus rangos de distribución a hábitats más adecuados para el desove (Sims *et al.*, 2001; Frisk, 2010).

Teniendo en cuenta esta característica observada en la distribución espacial de los elasmobranquios, y dado que se desconoce cuáles son los factores ambientales que definen el hábitat preferencial de *A. cyclophora*, los objetivos del presente capítulo fueron:

- estudiar el patrón de distribución y la abundancia de la especie, en relación con la existencia de posibles áreas de agregación reproductiva;
- caracterizar ambientalmente el área de ocurrencia de la especie mediante los registros de profundidad, temperatura y salinidad.

Metodología

Para analizar la abundancia y el patrón de distribución de la especie y relacionar esta información con datos ambientales, se procesó la información procedente de 4

campañas de investigación realizadas por el INIDEP durante la primavera de los años 2003 y 2005 y el invierno de los años 2004 y 2006 (Tablas 5.1 y 5.2).

Dada la estacionalidad de las condiciones ambientales dentro del área de estudio, los datos se analizaron para cada campaña por separado. Del mismo modo, en función de las diferencias oceanográficas dentro de la región, el área de estudio se dividió en dos zonas: El Río de la Plata, al norte de los 38°S y El Rincón, al sur de los 38°S. Para más detalles sobre estos aspectos, véase *Cap. 2: Materiales y Métodos*.

Los lances de pesca analizados se llevaron a cabo entre los 6 y 64 m de profundidad en el área del Río de la Plata, y entre los 11 y 50 m en El Rincón. A partir de la captura específica (Kg) registrada en cada lance y del área barrida durante el mismo (mn^2), se estimaron las abundancias relativas para la especie en toneladas por milla náutica cuadrada (t/mn^2). Asimismo, para cada una de las campañas de investigación, se determinó la proporción de individuos por sexo y estadio de madurez sexual en cada lance de pesca. Las capturas de *A. cyclophora* fueron divididas en individuos juveniles (sin discriminar entre machos y hembras), hembras adultas y machos adultos. Para esto se utilizó el estadio sexual determinado macroscópicamente, con excepción de la campaña EH-0403, ya que no se disponía de dicha información para toda la captura. En este caso, se utilizó el valor de la longitud media de madurez sexual estimada en esta tesis para machos y hembras, a fin de discriminar los individuos juveniles (menor a 530 y 570 mm LT, para machos y hembras respectivamente) de los adultos (mayor o igual a 530 y 570 mm LT).

Para cada campaña de investigación, se graficó la variación espacial de las abundancias relativas en peso (t/mn^2) y se analizaron los patrones de agregación reproductiva mediante la gráfica de las proporciones de individuos por sexo y estadio de madurez sexual. Se realizó una prueba de *Chi-cuadrado* para analizar la proporción de sexos de individuos adultos (Zar, 1999). Los mapas de distribución fueron elaborados utilizando el software SURFER 10.

Para caracterizar ambientalmente el área de ocurrencia de *A. cyclophora*, se analizaron los datos de profundidad, temperatura y salinidad de fondo registrados con un perfilador CTD en cada uno de los lances de pesca realizados (véase *Cap. 2: Materiales y Métodos*). Para el área del Río de la Plata, se tuvo en cuenta la información de las 4 campañas de investigación. Para El Rincón, solo se analizaron los años 2003 y 2004, debido a la ausencia de datos oceanográficos para dicha área durante el año 2005 y a la falta de lances con captura de *A. cyclophora* durante el año 2006. Para cada sitio de estudio se analizó, en el área de ocurrencia de la especie, la existencia de diferencias en las variables ambientales entre estaciones. Para esto, se testeó mediante un ANOVA, la hipótesis nula de ausencia de diferencias en los valores medios de profundidad, temperatura y salinidad de fondo, entre estaciones. Las diferencias significativas halladas se evaluaron con la prueba de Tukey (Zar, 1999).

Para analizar la caracterización ambiental de la ocurrencia de los distintos estadios ontogenéticos, sólo se tuvieron en cuenta las campañas realizadas en el área

del Río de la Plata durante la primavera de 2005 y el invierno de 2006, debido a la mayor representatividad de individuos adultos. Por un lado, se analizó el área de ocurrencia de cada estadio sexual en cada estación. Se compararon los valores medios de las variables ambientales mediante un ANOVA, bajo la hipótesis nula de ausencia de diferencias en dichos valores entre estadios sexuales. Las diferencias significativas halladas se evaluaron con la prueba de Tukey. Por otro lado, mediante la prueba de *t-Student*, se compararon las áreas de ocurrencia de cada estadio sexual, entre las estaciones.

Los datos se procesaron mediante los *software* estadísticos Infostat (2008) y R versión 3.3.1 (2016).

Tabla 5.1. Frecuencia de ocurrencia (%) de *Atlantoraja cyclophora*, estimada para los lances de pesca realizados durante las campañas de investigación de primavera 2003 y 2005 e invierno 2004 y 2006.

Año	Campaña	Estación	Área de estudio	Lances	Sin captura	Con captura	Ab. relativa (t/mn²)	%
2003	EH-0603	Primavera (Nov-Dic)	Río de La Plata	85	71	14	2,7	2,4
			El Rincón	67	49	18	2,8	3,1
2004	EH-0504	Invierno (Jul-Ago)	Río de La Plata	90	87	3	0,2	0,5
			El Rincón	67	59	8	0,9	1,4
2005	EH-0805	Primavera (Nov-Dic)	Río de La Plata	97	74	23	6,5	4,0
			El Rincón	84	65	19	2,1	3,3
2006	EH-0406	Invierno (Jun-Jul)	Río de La Plata	86	72	14	3,5	2,4
			El Rincón	6	6	0	0	-
Total				582	483	99	18,7	17,1

Tabla 5.2. Número de lances y cantidad de individuos analizados de *Atlantoraja cyclophora*, discriminados por estadio de madurez sexual, para cada campaña de investigación.

Campaña	Estación	Área de estudio	Nº lances	Juveniles	Machos adultos	Hembras adultas	
						Sin capsulas	Con cápsulas
EH-0603	Primavera	Río de La Plata	6	26	5	3	0
		El Rincón	9	36	6	2	0
EH-0504	Invierno	Río de La Plata	2	2	0	0	0
		El Rincón	8	16	1	0	0
EH-0805	Primavera	Río de La Plata	23	100	9	6	0
		El Rincón	17	26	2	0	3
EH-0406	Invierno	Río de La Plata	14	57	4	3	0
		El Rincón	-	-	-	-	-
Total			79	263	27	14	3

Resultados

Frecuencia de ocurrencia de *A. cyclophora* y abundancias relativas

Atlantoraja cyclophora fue capturada en 99 de los 582 lances de pesca realizados durante las campañas de investigación analizadas. La frecuencia de ocurrencia de la especie fue similar entre ambas primaveras (años 2003 y 2005) y los valores obtenidos durante esta estación en conjunto superaron a los registrados en las campañas de invierno (años 2004 y 2006) (Tabla 5.1).

En general, la mayoría de los lances realizados durante las 4 campañas de investigación reflejaron abundancias bajas. La proporción de lances con abundancias menores a 0,05 t/mn² representó el 87% del total de lances realizados (Figura 5.1). Las mayores abundancias se registraron en primavera, alcanzando un máximo de 1,25 t/mn² en el año 2005 en el área del Río de la Plata (Figura 5.1a), mientras que en invierno, las abundancias fueron inferiores a 0,75 t/mn², siendo 2004 el año con menor abundancia registrada (menores a 0,45 t/mn²) (Figura 5.1b).

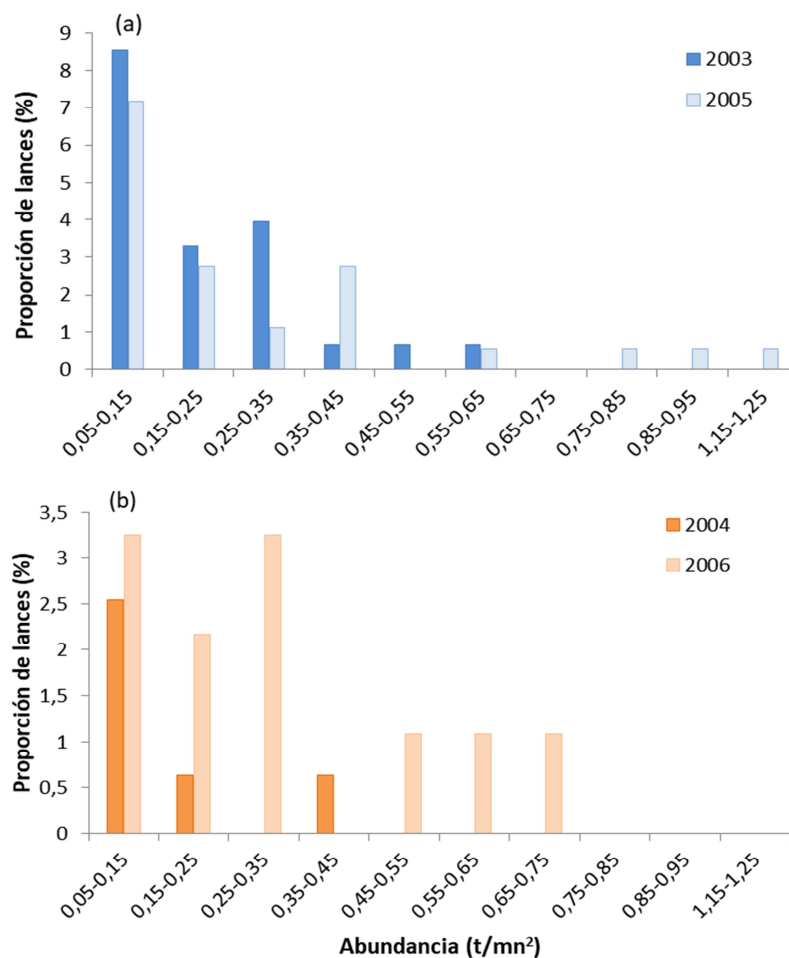


Figura 5.1. Porcentaje del número de lances de pesca por rango de abundancias relativas, estimadas en toneladas por milla náutica cuadrada (t/mn²), realizados

durante las campañas de investigación de (a) primavera de 2003 y 2005 y de (b) invierno de 2004 y 2006.

Patrones de distribución de las abundancias relativas

En la primavera de 2003, las mayores abundancias relativas (entre 0,25 y 0,75 t/mn²) para el área del Río de la Plata se registraron en los lances realizados sobre el margen externo del Río de la Plata y frente a la costa este de Uruguay, a profundidades mayores a 25 m (Figura 5.2a). En El Rincón las mayores abundancias relativas se registraron en lances realizados frente al estuario de Bahía Blanca y sobre la isobata de los 50 m, entre los 39°30' y 40°30'S (Figura 5.2a).

Durante el invierno de 2004 se observó una disminución en el número de lances con captura de *A. cyclophora*, para el área de estudio en general, con abundancias inferiores a 0,25 t/mn² (Figura 5.2b).

En la primavera de 2005, tanto el número de lances con captura como las abundancias relativas, se incrementaron notablemente respecto de 2004. Los puntos de concentración de la especie en el área del Río de la Plata fueron similares a la primavera de 2003, aunque se registró un mayor número de lances con abundancias relativas medias y altas (mayor a 0,75 t/mn²) próximos a la costa este y sur de Uruguay (a partir de los 13 m de profundidad). En El Rincón, la abundancia de la especie fue menor respecto de 2003; sin embargo, los valores más altos se mantuvieron principalmente sobre la isobata de los 50 m de profundidad y cerca de la costa al norte de la región (Figura 5.2c).

En invierno de 2006, las estaciones de muestreo realizadas en el área del Río de la Plata registraron lances de pesca con abundancias relativas medias (entre 0,25 y 0,75 t/mn²) concentrados principalmente frente a la costa este de Uruguay (entre los 53° y 54°O), entre los 15 y 53 m de profundidad (Figura 5.2d).

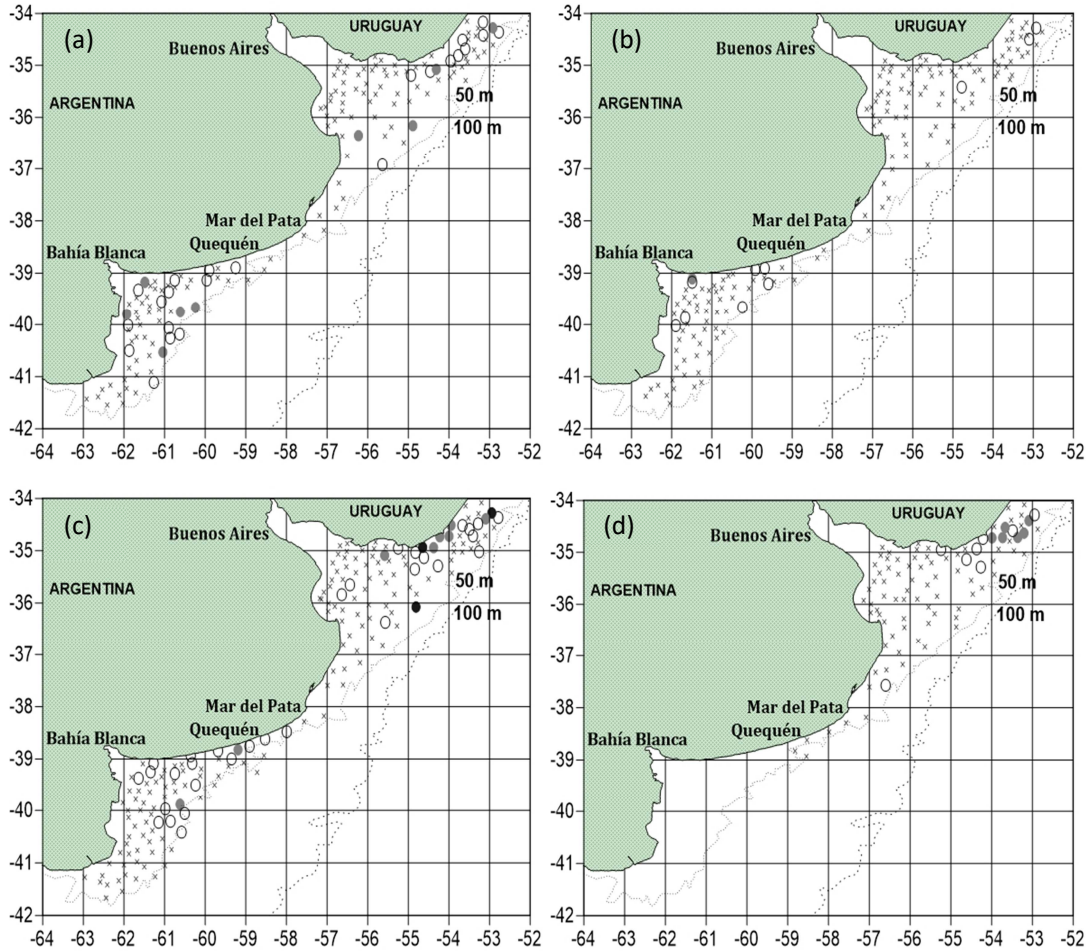


Figura 5.2. Distribución espacial de las abundancias relativas estimadas en toneladas por milla náutica cuadrada (t/mn^2) para los lances de pesca realizados durante las campañas de (a) primavera de 2003, (b) invierno de 2004, (c) primavera de 2005 e (d) invierno de 2006. Referencias: X sin captura; ○ con captura menor a 0,25; ● entre 0,25 y 0,75 y ● mayor a 0,75 t/mn^2 .

Composición de la captura por sexo y estadio de madurez

En las 4 campañas analizadas, el 71,5% del total de los lances muestreados estuvo representado por individuos juveniles, mientras que la proporción de lances con individuos adultos fue 9,8% para los machos y 4,9% para las hembras (Tabla 5.2). El rango de tallas para los juveniles fue 220 - 470 mm LT y para los adultos fue 520 - 670 mm LT. No se hallaron diferencias significativas para la LT entre individuos del área del Río de La Plata y El Rincón ($t=1,13$; g.l.=267; $p=0,25$). El rango de tallas para el área del Río de la Plata fue entre 250 y 670 mm LT (promedio=441 mm LT) y para El Rincón entre 220 y 650 mm LT (promedio= 424 mm LT) (Figuras 5.3 a 5.6).

Distribución espacial por estadios de madurez sexual

Los resultados obtenidos son de carácter cualitativo, dada la baja representatividad de la especie en los lances analizados.

Durante la primavera de 2003, los lances con individuos juveniles en el área Río de la Plata se hallaron frente a la costa este de Uruguay, a profundidades entre 25 y 30 m, mientras que en El Rincón fueron más abundantes y se distribuyeron homogéneamente entre los 14 y 50 m de profundidad (Figura 5.3a). Los adultos de ambos sexos se observaron en un lance frente a Punta Rasa (16 m de profundidad) y otro frente a Punta del Este, a 33 m de profundidad (Figuras 5.3b y 5.3c). Sin embargo, los lances con mayor abundancia de machos en área del Río de la Plata se hallaron entre los 30 y 40 m (Figura 5.3b). La proporción de individuos adultos no resultó significativamente diferente de la relación esperada 1:1 ($n=8$; $X^2=0,5$; $p=0,47$). Los lances con machos y hembras adultos en El Rincón se concentraron entre los 37 y 50 m (Figuras 5.3b y 5.3c). Si bien la proporción de sexos entre individuos adultos, fue de 3 machos por cada hembra, la misma no resultó significativamente distinta de la relación esperada 1:1 ($n=8$; $X^2=2$; $p=0,15$) (Tabla 5.2).

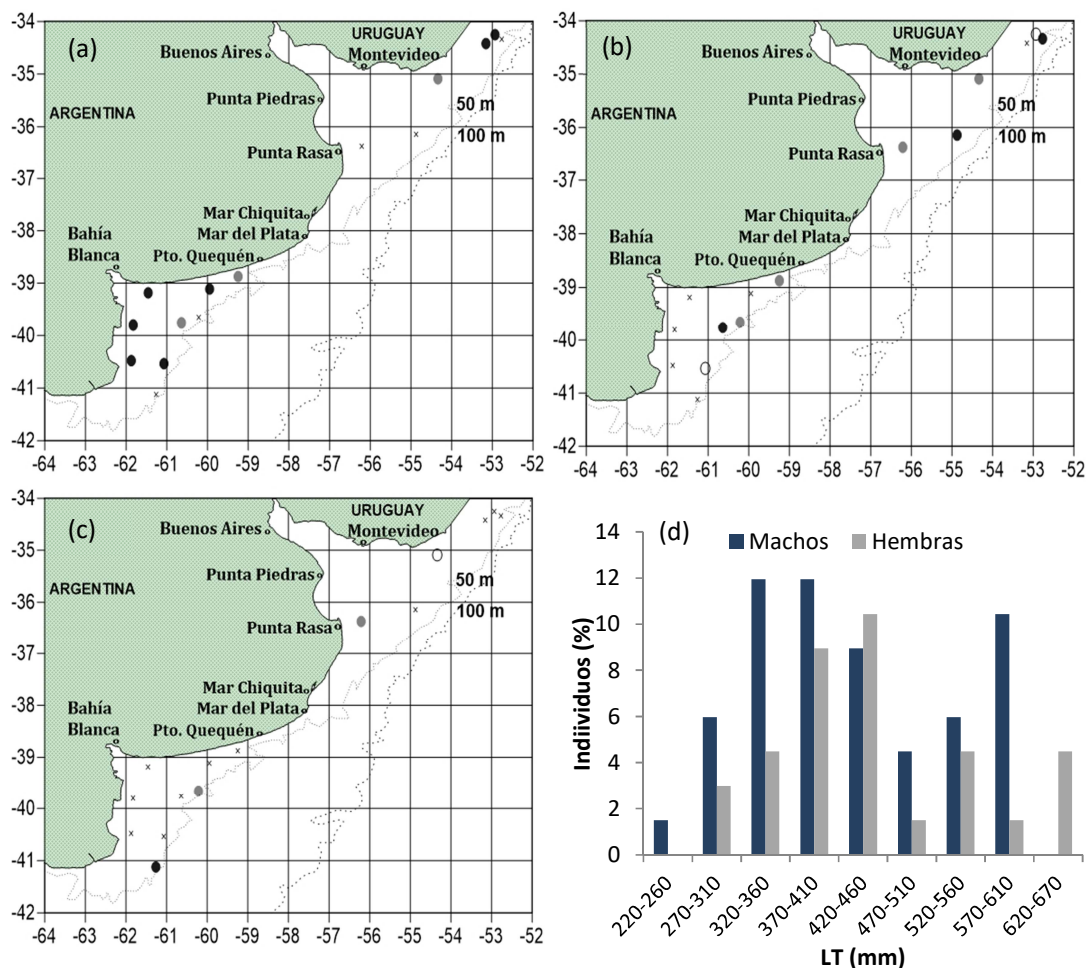


Figura 5.3. Lances de pesca con captura de *Atlantoraja cyclophora* correspondientes a la campaña de primavera de 2003, indicando la proporción de ejemplares (%) en (a) estadio juvenil, (b) macho adulto y (c) hembra adulta sin cápsulas. Referencias: X 0%; ○ menor a 25%; ● entre 25 y 75% y ● mayor a 75%. (d) Distribución de frecuencia de tallas de los individuos analizados.

En invierno de 2004, la captura se compuso principalmente por individuos juveniles; solo se registró un lance con un macho adulto en El Rincón, a la altura de los 39°S, a 10,9 m de profundidad. Los juveniles mantuvieron el mismo patrón de distribución respecto de la primavera de 2003, en ambos sitios de estudio, aunque en El Rincón predominaron por encima de los 40°S (Figura 5.4).

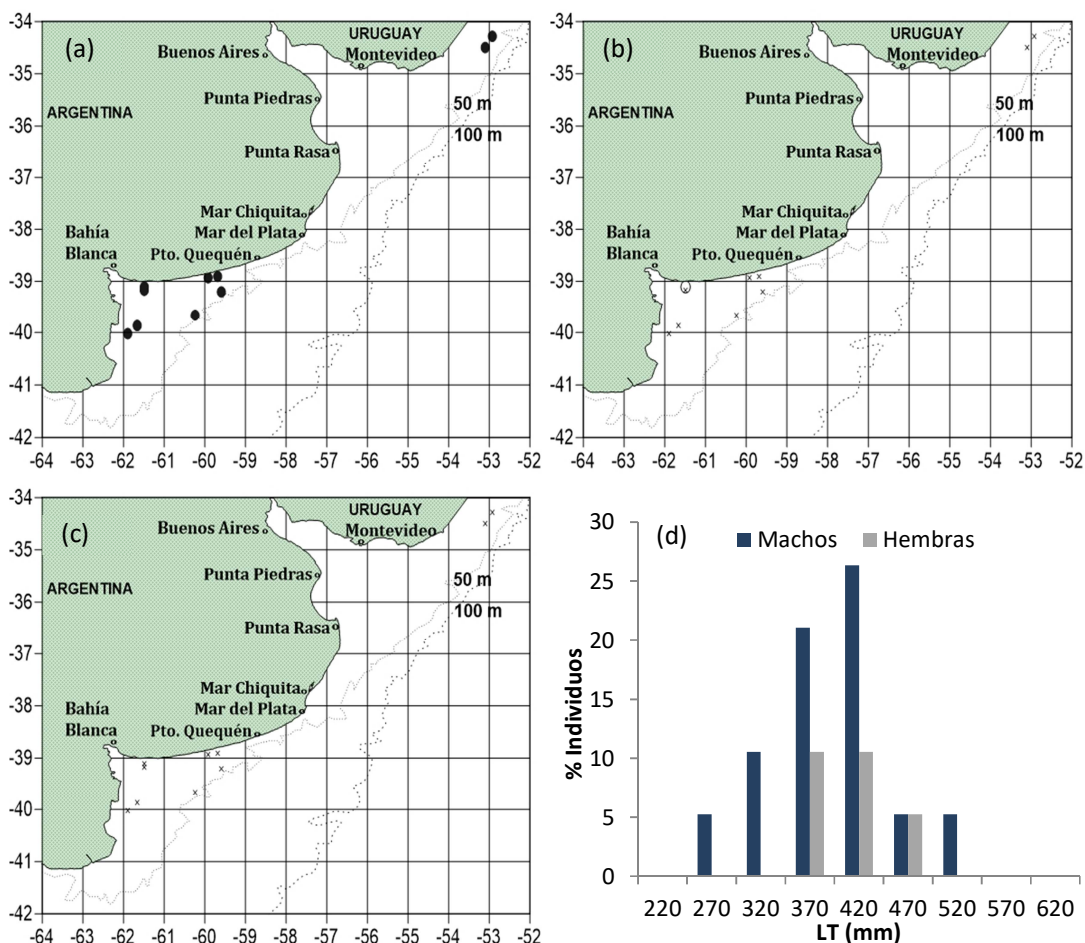


Figura 5.4. Lances de pesca con captura de *Atlantoraja cyclophora* correspondientes a la campaña de invierno de 2004, indicando la proporción de ejemplares (%) en (a) estadio juvenil, (b) macho adulto y (c) hembra adulta sin cápsulas. Referencias: X 0%; ○ menor a 25%; ● entre 25 y 75% y ● mayor a 75%. (d) Distribución de frecuencia de tallas de los individuos analizados.

En primavera de 2005, los lances con individuos juveniles en el área del Río de la Plata se concentraron principalmente frente la costa este y sur de Uruguay (a partir de 17 m de profundidad) y hasta la isobata de 50 m. También se registraron dos lances con porcentaje alto de juveniles sobre el margen externo del Río de la Plata (entre 13 y

16 m), frente a la Bahía de Samborombón (entre Punta Piedras y Punta Rasa) y otros dos por fuera de dicho margen, entre 17 y 35 m de profundidad. En El Rincón, los juveniles se concentraron principalmente sobre la línea de costa y abarcaron hasta la isobata de 50 m (Figura 5.5a). Los lances con machos y hembras adultos se concentraron principalmente en el área del Río de la Plata. Los machos abarcaron desde la costa este de Uruguay hasta la isobata de 50 m, mientras que en El Rincón se registró un lance ubicado frente al estuario de Bahía Blanca, con 2 machos adultos (Figura 5.5b). Las hembras siguieron el mismo patrón de distribución pero se mantuvieron más cercanas a la costa (Figura 5.5c). La proporción de sexos entre individuos adultos, para el área del Río de la Plata, fue de 1,5 machos por cada hembra y no difirió significativamente de la proporción esperada 1:1 ($n=15$; $X^2=0,6$; $p=0,43$). En El Rincón se registraron 3 lances con hembras grávidas (un individuo por lance) entre los 39° y 40°30'S; en uno de ellos se observó la co-ocurrencia con individuos juveniles y machos adultos (Figura 5.5d). No se hallaron diferencias significativas en la proporción de sexos entre individuos adultos ($n=5$; $X^2=0,2$; $p=0,65$) (Tabla 5.2).

En invierno de 2006, los lances con individuos juveniles se concentraron sobre la costa este de Uruguay, entre los 13 y 42 m de profundidad. También se registró la presencia de juveniles en un lance al norte de Mar Chiquita a 50 m de profundidad (Figura 5.6a). Los lances con machos y hembras adultos se registraron cercanos a la costa (menor a 20 m), aunque la mayor proporción de machos se halló a partir de los 40 m de profundidad (Figuras 5.6b y 5.6c). La proporción de sexos entre individuos adultos no difirió de la relación esperada 1:1 ($n=7$; $X^2=0,14$; $p=0,7$) (Tabla 5.2).

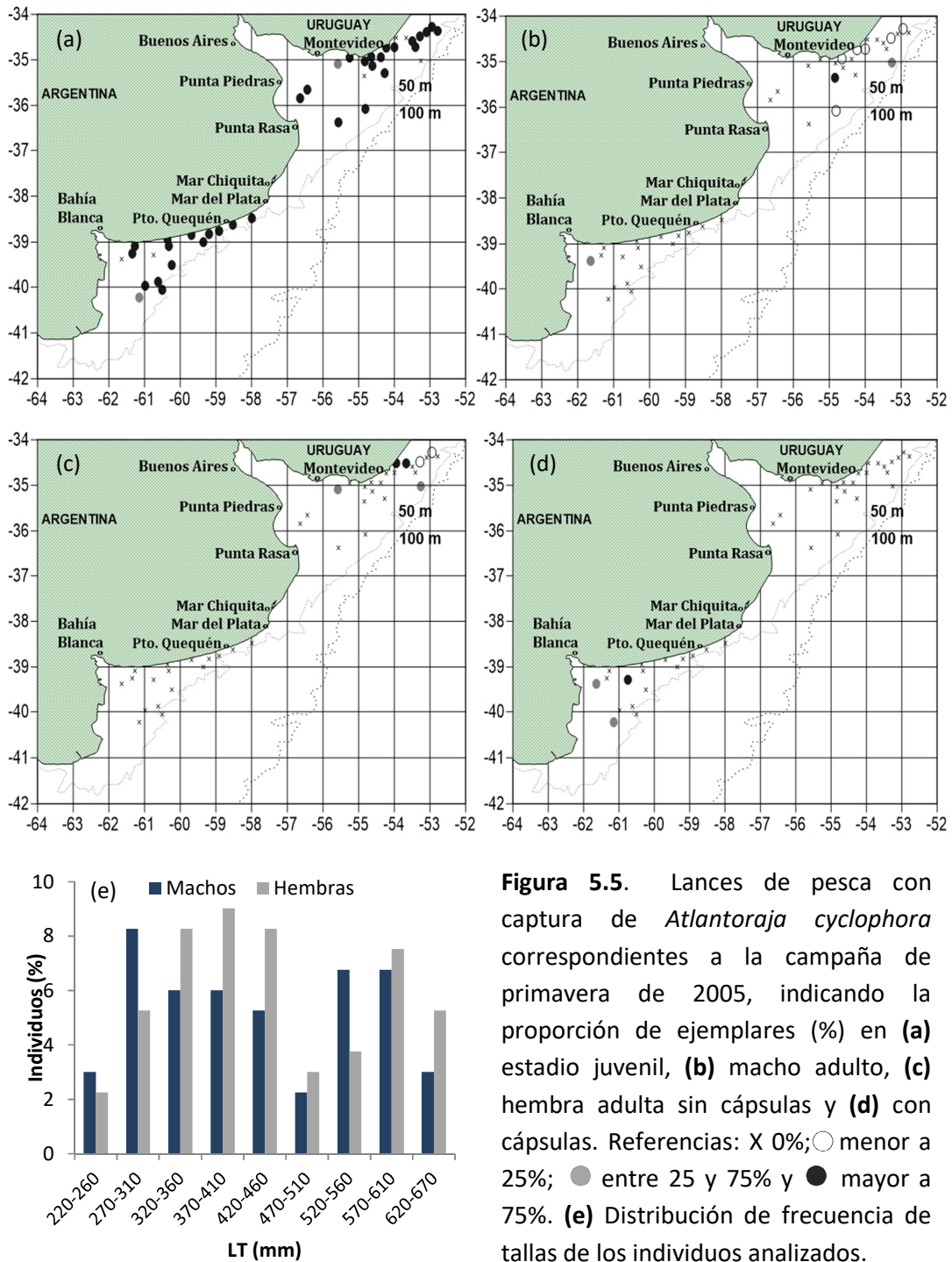


Figura 5.5. Lances de pesca con captura de *Atlantoraja cyclophora* correspondientes a la campaña de primavera de 2005, indicando la proporción de ejemplares (%) en (a) estadio juvenil, (b) macho adulto, (c) hembra adulta sin cápsulas y (d) con cápsulas. Referencias: X 0%; ○ menor a 25%; ● entre 25 y 75% y ● mayor a 75%. (e) Distribución de frecuencia de tallas de los individuos analizados.

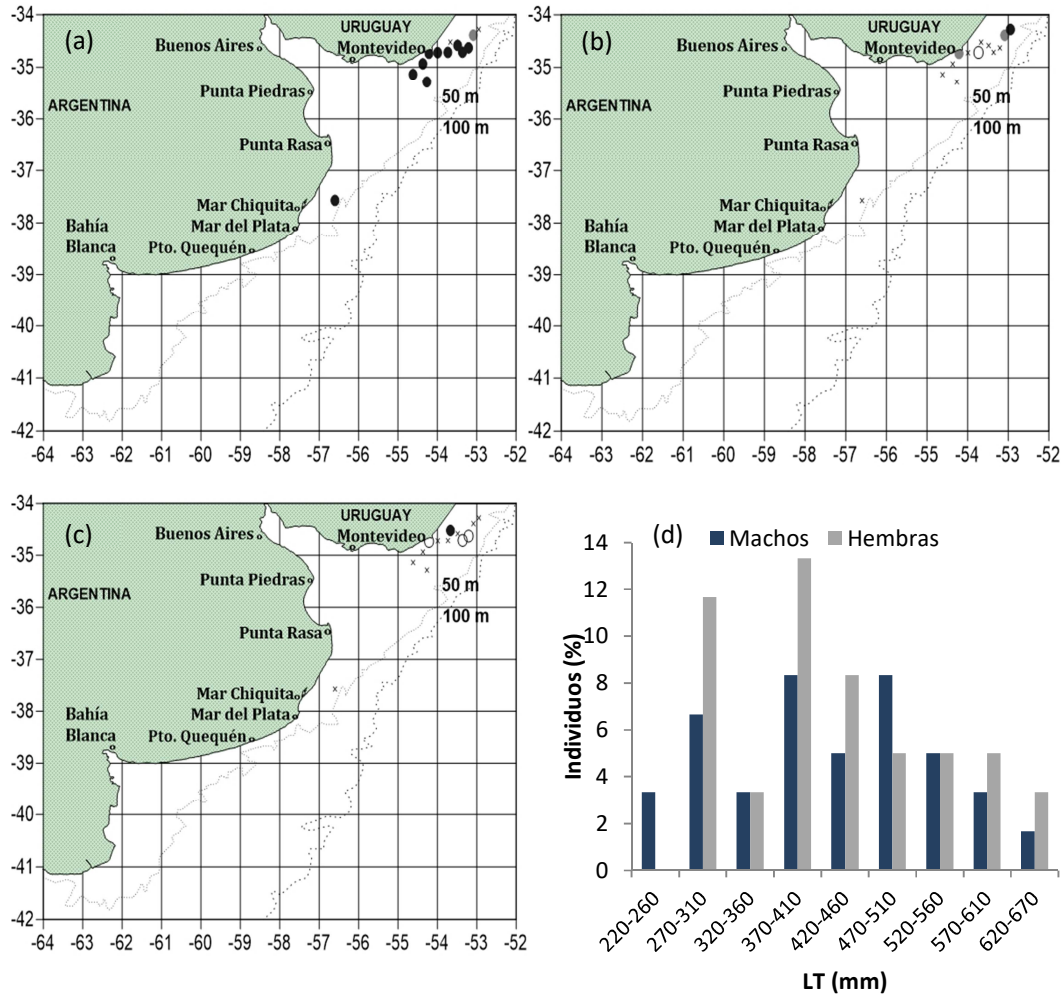


Figura 5.6. Lances de pesca con captura de *Atlantoraja cyclophora* correspondientes a la campaña de invierno de 2006, indicando la proporción de ejemplares (%) en (a) estadio juvenil, (b) macho adulto y (c) hembra adulta sin cápsulas. Referencias: X 0%; ○ menor a 25%; ● entre 25 y 75% y ● mayor a 75%. (d) Distribución de frecuencia de tallas de los individuos analizados.

Relación entre las variables ambientales

En el área del Río de la Plata y El Rincón, la temperatura de fondo disminuyó con el incremento de la profundidad durante la primavera, mientras que durante el invierno la relación entre estas variables fue la inversa (Figuras 5.7a a 5.7d).

Por otra parte, en el área del Río de la Plata, en ambas estaciones, la salinidad aumentó exponencialmente con la profundidad hasta aproximadamente los 15 m, alcanzando un valor cercano a 34 ppm. Por el contrario, en El Rincón, la salinidad no varió con la profundidad (Figuras 5.7a a 5.7d).

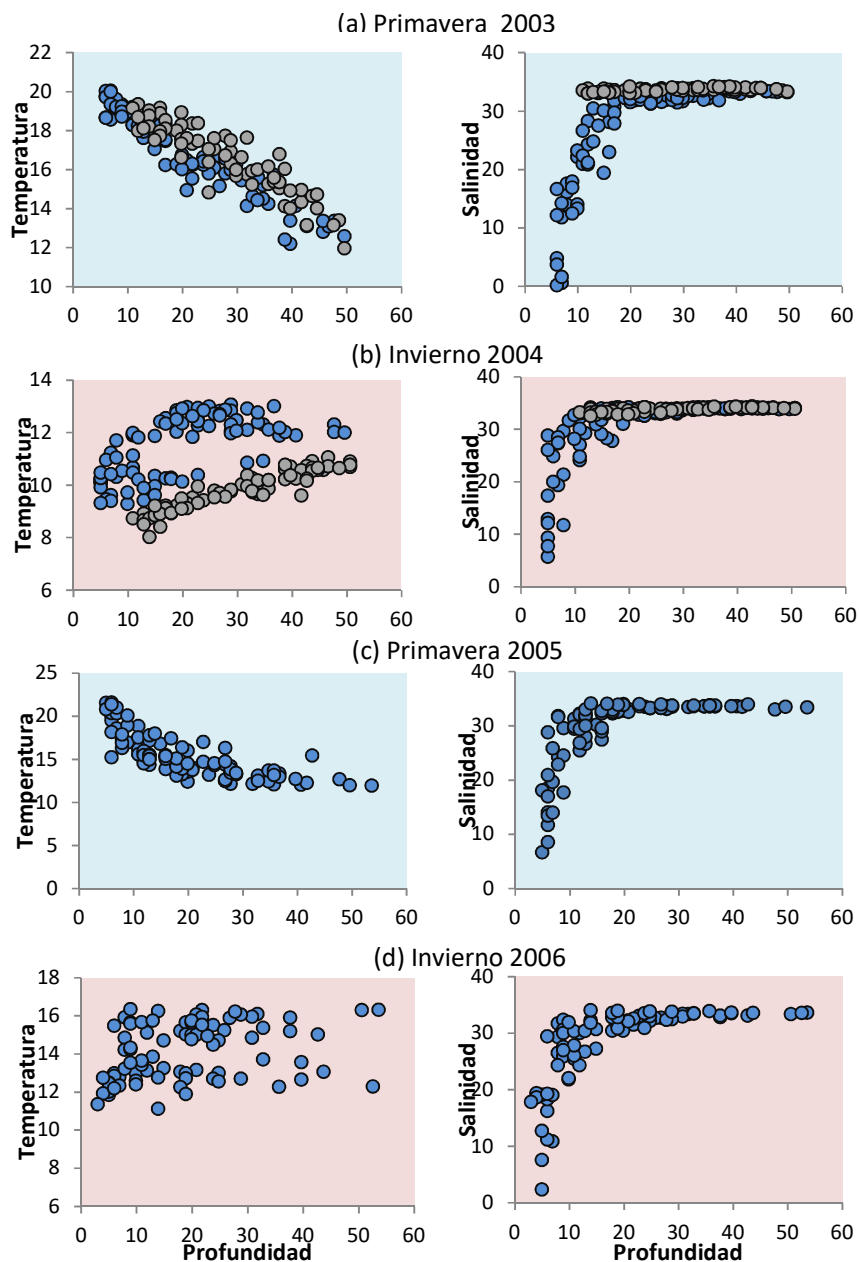


Figura 5.7. Relación entre los valores de temperatura y salinidad de fondo con la profundidad, registrados para el área del Río de La Plata (en azul) y El Rincón (en gris).

Distribución batimétrica de *A. cyclophora* y caracterización ambiental de las áreas de ocurrencia

Atlantoraja cyclophora fue capturada entre los 10,9 y 53,6 m de profundidad (valor medio: 29,2 m), a temperaturas entre 8,5 y 19,2°C (valor medio: 14,3°C) y 26,6 y 34,1 ppm de salinidad (valor medio: 32,9 ppm). Al comparar las áreas de ocurrencia de la especie en la zona del Río de la Plata, se hallaron diferencias significativas en los valores medios de temperatura de fondo entre las estaciones (ANOVA: $F=8,77$; g.l.=49; $p<0,0001$), entre los inviernos de 2004 y 2006 y la primavera de 2005. En cambio, los valores medios de profundidad (ANOVA: $F=0,9$; g.l.=49; $p=0,45$) y salinidad de fondo (ANOVA: $F=1,1$; g.l.=49; $p=0,35$) no mostraron diferencias significativas, entre estaciones (Tabla 5.3). Por su parte, en El Rincón, se observó el mismo patrón en las variables ambientales (temperatura: ANOVA: $F=82$; g.l.=24; $p<0,0001$; profundidad: $F=0,24$; g.l.=24; $p=0,62$ y salinidad $F=0,1$; g.l.=24; $p=0,75$) (Tabla 5.3).

Tabla 5.3. Valores medios y rangos (entre paréntesis) de ocurrencia de *Atlantoraja cyclophora* según la profundidad, temperatura y salinidad de fondo, registrados para cada estación en el área del Río de La Plata (RP) y El Rincón (ER).

Estación	Zona	n	Profundidad (m)	Temperatura (°C)	Salinidad (ppm)
Primavera (2003)	RP	13	33,4 (16,9-49,6)	14,8 (12,2-17,5)	32,3 (29,7-33,45)
	ER	18	28,8 (11,9-47,6)	16,5 (13,2-19,2)	33,6 (33,1-33,9)
Invierno (2004)	RP	3	35,1 (27,8-47,7)	12,4 (12,1-12,8)	33,8 (33,7-33,9)
	ER	8	26,1 (10,9-46,6)	9,5 (8,5-10,9)	33,6 (32,5-34,2)
Primavera (2005)	RP	23	28,3 (12,9-53,6)	13,3 (11,9-17,1)	32,7 (26,6-33,7)
Invierno (2006)	RP	14	28,1 (13,9-53,6)	15,3 (11,1-16,3)	32,3 (30,7-34,1)

Caracterización ambiental de las áreas de ocurrencia de *A. cyclophora* por estadios de madurez sexual en la región del Río de la Plata

Al analizar el área de ocurrencia de cada estadio sexual, en cada estación, no se hallaron diferencias significativas en los valores medios de las variables ambientales, entre los estadios sexuales (Tabla 5.4). Por otro lado, al comparar los valores medios de las variables ambientales para cada estadio, entre las estaciones, solo se hallaron diferencias significativas en la temperatura media de fondo (Tabla 5.5).

Tabla 5.4. Comparación estadística (*t-Student*) entre los valores medios de profundidad (P, m), temperatura (T, °C) y salinidad de fondo (S, ppm) para las campañas de primavera de 2003 y de invierno de 2004 realizadas en la zona norte (<38°S).

Individuos	V.A	Primavera (2003)	Invierno (2004)	<i>t-Student</i>
Juveniles	P	28,4	27,2	t=0,29; gl=31; p=0,77
	T	13,6	15,2	t=-2,28; gl=31; p=0,005
	S	32,7	32,3	t=0,7; gl=31; p=0,48
Machos adultos	P	33,9	32,2	t=0,22; gl=11; p=0,83
	T	12,9	15,8	t=-6,79; gl=11; p<0,0001
	S	33,4	32,2	t=2,21; gl=4; p=0,09
Hembras adultas	P	30,5	28,2	t=0,28; gl=8; p=0,78
	T	12,9	15,3	t=-5,53; gl=8; p=0,0006
	S	33,1	32,2	t=1,83; gl=8; p=0,10

Tabla 5.5. Comparación estadística (ANOVA) de los valores medios de profundidad (P, m), temperatura (T, °C) y salinidad de fondo (S, ppm) entre juveniles (Juv), machos (Ma) y hembras (Ha) adultos de *Atlantoraja cyclophora*, para la primavera de 2003 y el invierno de 2004. Entre paréntesis se presenta en número de individuos analizados.

Primavera 2005				
VA	Juv (22)	Ma (8)	Ha (5)	ANOVA
P	28,4	33,9	30,5	F=0,61; gl=32; p=0,54
T	13,6	12,9	12,9	F=1,32; gl=32; p=0,28
S	32,7	33,4	33,1	F=0,62; gl=32; p=0,54
Invierno 2006				
VA	Juv (11)	Ma (5)	Ha (5)	ANOVA
P	27,2	27,2	28,2	F=0,23; gl=18; p=0,79
T	15,2	15,8	15,3	F=0,49; gl=18; p=0,62
S	32,3	32,2	32,2	F=0,04; gl=18; p=0,96

A pesar de los resultados estadísticos, al observar los rangos de ocurrencia de cada estadio sexual (Figuras 5.8 a 5.10), se detectó que los valores medios de profundidad para los juveniles y las hembras adultas en ambas estaciones, fueron menores respecto de los machos adultos (Figura 5.8). Por otra parte durante la primavera, los juveniles se encontraron a partir de 26,6 ppm de salinidad, mientras que los adultos se hallaron a partir de 32,3 ppm (Figura 5.10).

En lo referido a la temperatura, se observó que los rangos de los juveniles, para ambas estaciones, fueron más amplios que los de machos y hembras adultos. Por otra parte, los rangos para juveniles fueron similares entre estaciones, mientras que en los

adultos no se observó superposición entre estos. Los machos y hembras adultos se encontraron a temperaturas de fondo inferiores a 14,5°C durante la primavera, mientras que en invierno se hallaron por encima de dicho valor (Figura 5.9).

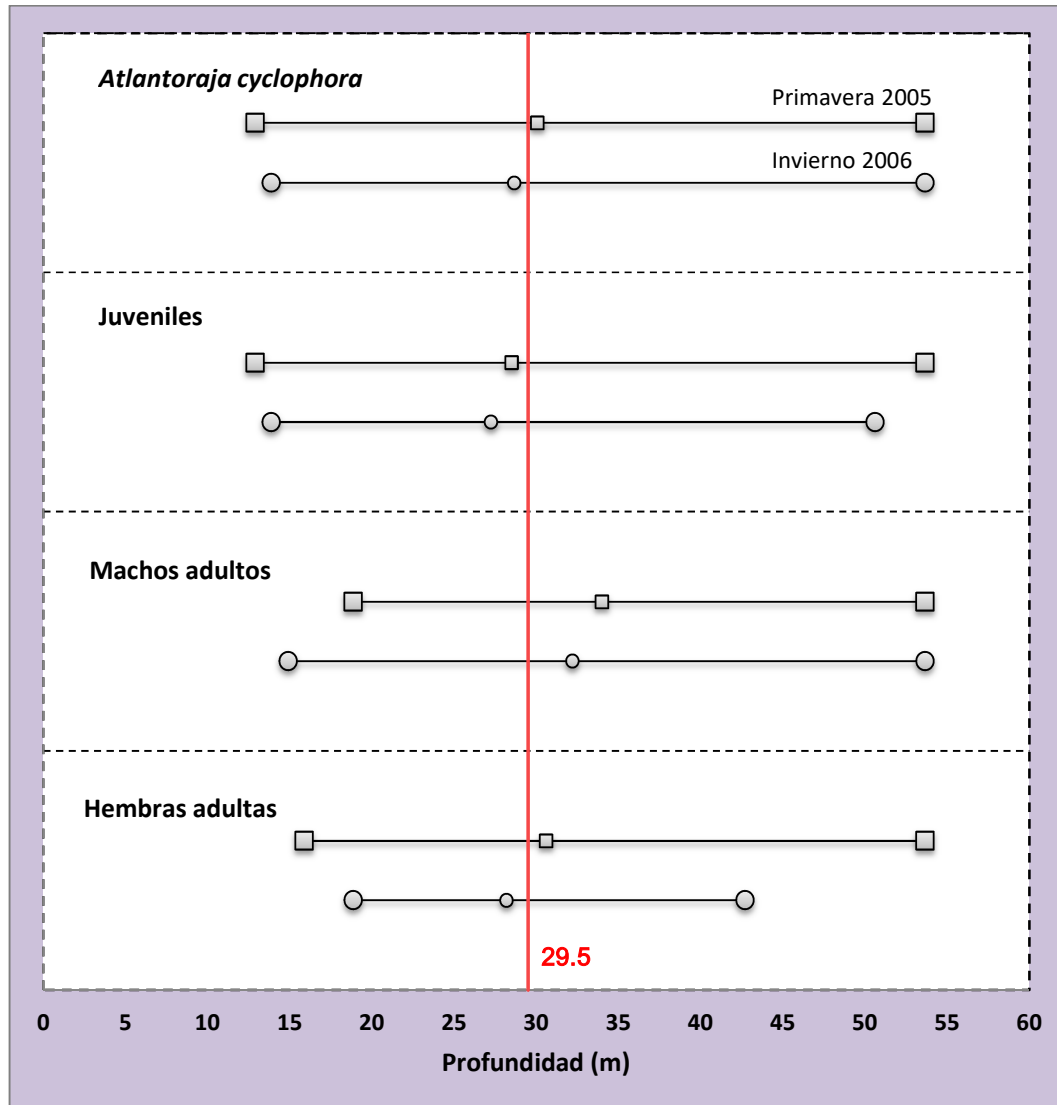


Figura 5.8. Rangos y valores medios de profundidad para la ocurrencia de *Atlantoraja cyclophora* y en cada estadio de madurez sexual por separado, obtenidos para las campañas de primavera de 2005 y de invierno de 2006, realizadas en la zona norte (<38°S). La línea vertical central, representa el valor medio de profundidad para toda la muestra analizada.

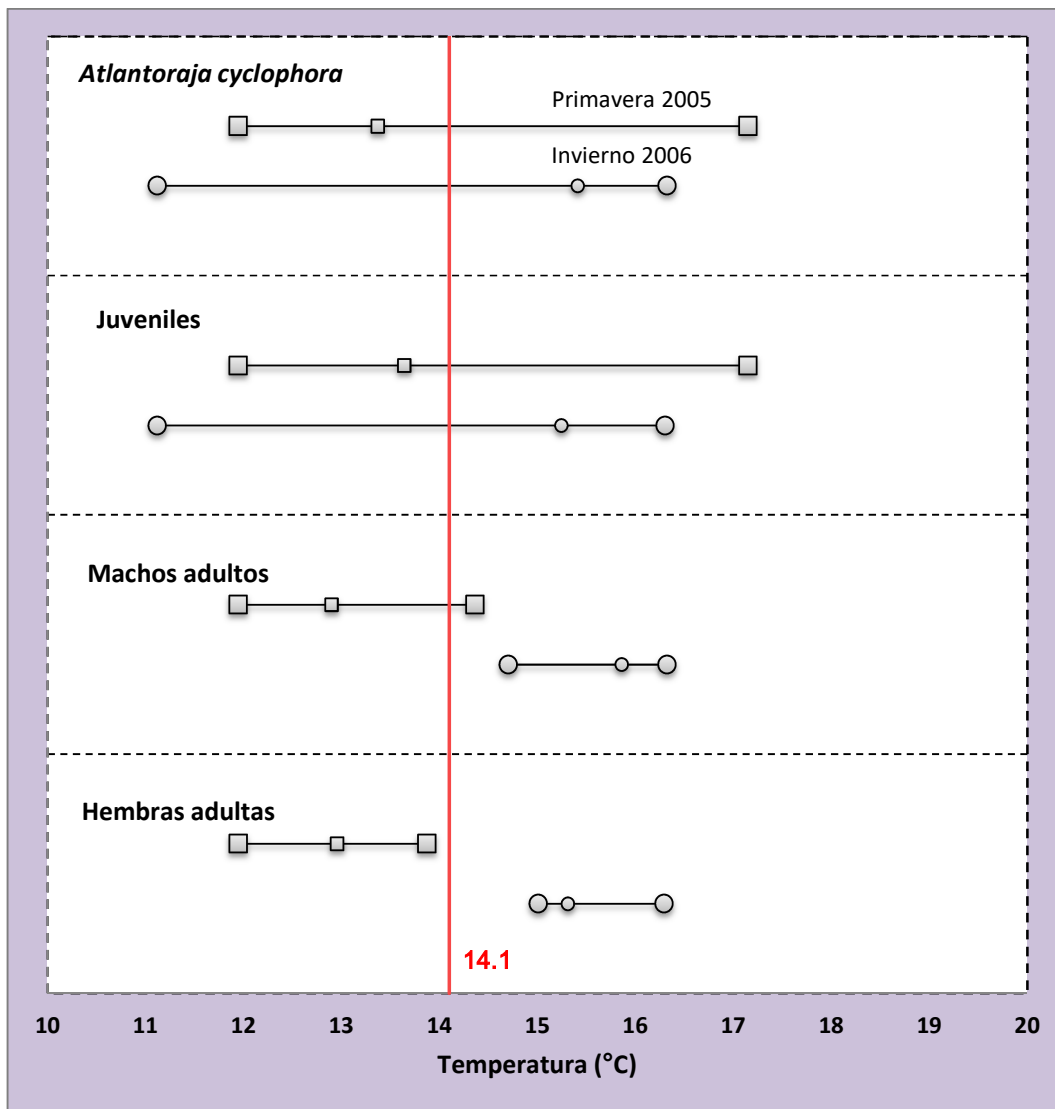


Figura 5.9. Rangos y valores medios de temperatura de fondo, para la ocurrencia de *Atlantoraja cyclophora* y en cada estadio de madurez sexual por separado, obtenidos para las campañas de primavera de 2005 y de invierno de 2006, realizadas en la zona norte (<38°S). La línea vertical central, representa el valor medio de profundidad para toda la muestra analizada.

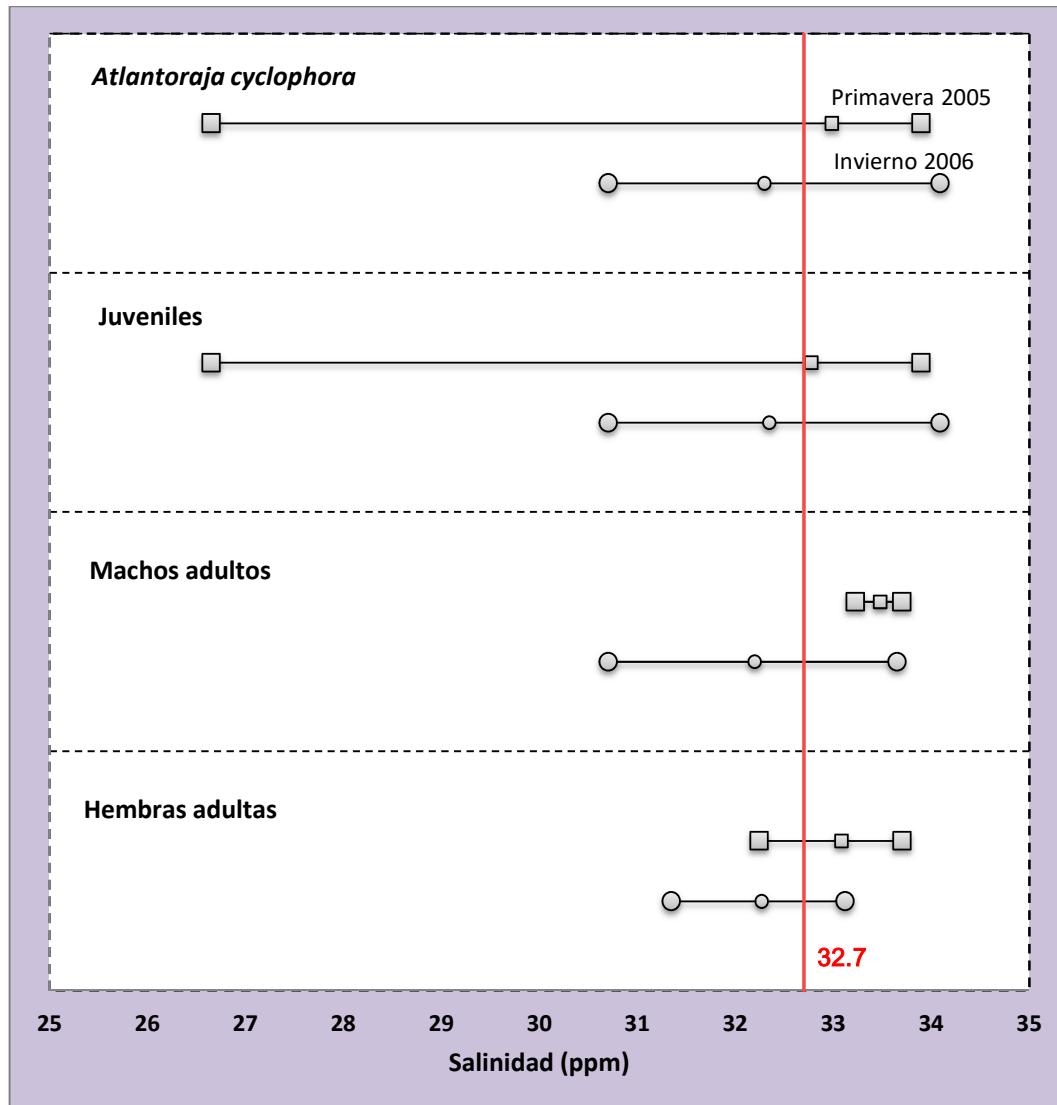


Figura 5.10. Rangos y valores medios de salinidad de fondo, para la ocurrencia de *Atlantoraja cyclophora* y en cada estadio de madurez sexual por separado, obtenidos para las campañas de primavera de 2005 y de invierno de 2006 realizadas en la zona norte (<38°S). La línea vertical central, representa el valor medio de salinidad para toda la muestra analizada.

Discusión

Los resultados obtenidos, respecto a las abundancias relativas estimadas para *A. cyclophora* en el área de estudio, indican que, en general, la especie es poco abundante dado el alto porcentaje (87%) de lances registrados con densidades menores a $0,05 \text{ t/mn}^2$. Las mayores abundancias se obtuvieron en el área del Río de la Plata durante la primavera de 2005, con un máximo de $1,25 \text{ t/mn}^2$. Los puntos con mayor concentración de la especie se hallaron próximos a la costa este y sur de Uruguay y sobre el margen externo del Río de la Plata. En El Rincón, las mayores abundancias ($0,25$ y $0,75 \text{ t/mn}^2$) se registraron en los lances realizados durante la primavera de 2003, frente al estuario de Bahía Blanca y sobre la isobata de los 50 m de profundidad. Esto indicaría que la especie se distribuye de manera heterogénea, tanto en la zona del Río de la Plata como en El Rincón. En cuanto a la estructura de la captura por sexo y estadio de madurez sexual, se observó que la población de *A. cyclophora* en toda la zona de estudio se compone principalmente por individuos juveniles. Al analizar los adultos por separado, no se hallaron diferencias significativas en cuanto a la proporción de sexos. Sin embargo, al igual que lo observado en *A. castelnaui* (Colonello, 2009; Cortés, 2012), *A. cyclophora* podría segregarse a una escala espacial pequeña, originando diferencias en las proporciones sexuales por lance, sin provocar grandes diferencias en el uso del hábitat.

A partir del análisis realizado con la información obtenida en las cuatro campañas de investigación, se determinó que la frecuencia de ocurrencia de la especie fue mayor durante la primavera, en comparación con el invierno. Cabe destacar, que en el invierno de 2004 el número de lances con captura de *A. cyclophora* fue relativamente bajo, mientras que en el invierno de 2006 solo se contó con datos de los lances realizados en el área del Río de la Plata. Mazza y Hozbor (2011), analizaron los valores de abundancia estimados para varias especies de peces cartilaginosos, entre ellas *A. cyclophora*, en la misma zona de estudio, entre 1993 y 2005. Estos autores registraron una disminución de la abundancia a lo largo del periodo analizado, siendo mínima en el año 2004 para todas las especies estudiadas y plantearon que esto podría deberse a la creciente presión pesquera ejercida en la región bonaerense. Otra explicación para los resultados obtenidos aquí, podría ser un desplazamiento excepcional de la especie hacia fuera del área de muestreo debido, quizá, a factores ambientales ocasionales. Esto se sustenta en el hecho de que esta especie ha sido observada hasta en profundidades máximas de 200 m (Menni y Stehmann, 2000), por lo que la extensión abarcada en el área de estudio sólo representa un 25% de la distribución espacial de *A. cyclophora*.

Las variables ambientales como la temperatura, la salinidad y la profundidad, han sido ampliamente propuestas como factores importantes que determinan las diferencias ontogenéticas en el uso del hábitat y las variaciones estacionales en la abundancia de muchas especies de elasmobranquios (Smith y Merriner, 1987; Rousset,

1990; Hopkins y Cech, 2003; Robbins, 2007; Vögler *et al.*, 2008; Cortés *et al.*, 2011, Cortés, 2012). Por ejemplo, algunas especies de tiburones (*M. schmitti* y *S. guggenheim*) y rayas (*S. bonapartti*) del Distrito Bonaerense, realizan desplazamientos longitudinales entre zonas de aguas profundas y costeras, respondiendo a cambios estacionales de temperatura (temperaturas cálidas a mayor profundidad en otoño-invierno y a baja profundidad en primavera-verano; Lucas *et al.*, 2005) que generan variaciones en sus abundancias (Cortés, 2012). En este trabajo se observó que, tanto para el área del Río de la Plata como El rincón, *A. cyclophora* presenta preferencia por la profundidad y no sería afectada de manera significativa por las variaciones estacionales de temperatura de fondo. Los juveniles se distribuyen desde aguas de baja profundidad (13 m) hasta la isobata de los 50 m, mientras que los adultos, predominan a partir de los 30 m, siendo los machos los que ocupan principalmente las zonas más profundas (mayor de 40 m). Por otra parte, durante la primavera de 2005, se registró la presencia de juveniles en el margen interno del Río de la Plata. En los sistemas costeros y estuarinos, la salinidad es uno de factores ambientales determinantes en la distribución de especies de condriictios pudiendo provocar cambios estacionales y regionales en la disponibilidad y distribución de presas (Jaureguizar *et al.*, 2004; Jaureguizar *et al.*, 2006; Vögler *et al.*, 2008; Barbini y Lucifora, 2016). *Atlantoraja cyclophora* presenta hábitos alimentarios bento-demersales, variando su dieta en función del tamaño corporal y en respuesta a la disponibilidad de presas (Barbini y Lucifora, 2016). Los juveniles se alimentan principalmente de pequeños crustáceos, como camarones y langostinos, los cuales son más abundantes en la estación cálida (Iorio *et al.*, 1996; Scelzo *et al.*, 2002; Barbini y Lucifora, 2016). Por lo tanto, las variaciones en la salinidad de las aguas costeras podrían influir en los hábitos alimenticios de los individuos juveniles y por lo tanto en su patrón de distribución.

Por otra parte, en el área del Río de la Plata, se observó mayor proporción de hembras y machos adultos cercanos a la costa durante la primavera. Muchas especies de rájidos presentan ciclos reproductivos anuales con picos estacionales en el desove y realizan migraciones hacia áreas someras en primavera, para la época reproductiva (Braccini y Chiaramonte 2002; San Martín *et al.*, 2005; Colonello *et al.*, 2007b; Oddone *et al.*, 2007; Collonelo *et al.*, 2012). En general, las especies de rayas que tienen un ciclo reproductivo con una fuerte estacionalidad, exhiben desplazamientos espaciales de mayor extensión, respecto de aquellas que no tienen una estacionalidad reproductiva definida (Frisk, 2010). El uso de hábitats de aguas cálidas por parte de las hembras puede resultar beneficioso para la reproducción, acortando los tiempos de gestación en hembras vivíparas preñadas, incrementando las tasas de supervivencia de las crías o una mayor tasa de producción de huevos en especies ovíparas (Jirik y Lowe, 2012). En esta tesis se llegó a la conclusión de que *A. cyclophora* presenta un ciclo anual con un posible pico en la actividad reproductiva durante la primavera (véase Cap. 4: Estimación de parámetros reproductivos de *A. cyclophora*). Este hecho, plantea

la posibilidad de que la especie presente un desplazamiento hacia la costa con fines reproductivos, durante dicha estación. De todas maneras, en base a la información obtenida respecto a la relación entre la abundancia y distribución de los ejemplares con la temperatura, parece haber una ausencia de estacionalidad reproductiva definida, que implique un comportamiento migratorio específico. Sin embargo, es probable que esa falta de estacionalidad se deba al escaso número de lances con individuos adultos hallados en las capturas y a la limitada cobertura espacial de los muestreos, en relación al rango de profundidad registrada para esta especie.

Con respecto a las campañas analizadas aquí, se hallaron hembras con huevos en solo tres lances (una hembra por lance) realizados en el área estuarina de El Rincón durante la primavera de 2005 y en uno de ellos se registró la co-ocurrencia con individuos juveniles y machos adultos. Según estos resultados, no pareciera existir un patrón de agregación de hembras que conformen un área exclusiva de puesta. Colonello (2009) observó que las hembras con cápsulas de *R. agassizi* se segregan del resto de los estadios reproductivos a una escala espacial pequeña, sin observarse agregaciones de estaciones de muestreo con una misma composición de estadios que permitan definir áreas de puesta. Este comportamiento reproductivo también podría darse en *A. cyclophora*. Sin embargo, debería realizarse un estudio más profundo, que incluya un mayor número de individuos y otras estaciones del año, para poder confirmar estas suposiciones.

Con respecto al uso de hábitat, en las aguas costeras del Atlántico Sudoccidental, los condrictios con preferencia de hábitat específicos para la puesta o parición serían más vulnerables a la explotación localizada y a las variaciones ambientales, que aquellos sin preferencias por hábitats particulares (Cortés, 2012). Según los resultados obtenidos aquí, *A. cyclophora* no presenta grandes variaciones estacionales en la abundancia, ni tampoco una segregación ontogenética clara en el uso del hábitat. Sin embargo, esta especie presenta un patrón de distribución heterogéneo dentro del área del estudio y su población está conformada principalmente de individuos juveniles. Asimismo, las zonas de mayor concentración de la especie se componen de estadios ontogenéticos de los que depende la tasa de crecimiento poblacional (juveniles y también hembras con huevos) y coinciden con áreas que se encuentran muy impactadas por la presión pesquera (Massa *et al.*, 2004; Massa *et al.*, 2008), lo que aumenta la susceptibilidad de la especie a la explotación. Por lo tanto, es importante considerar estos aspectos para tomar decisiones adecuadas de manejo y conservación de la especie.

CAPÍTULO 6

Consideraciones finales y conclusiones

El plan de organización de los peces cartilaginosos es un modelo sumamente conservado a lo largo de más de 400 millones de años (McEachran y Dunn, 1998; Musick y Ellis, 2005). Dentro de este esquema, los condriictios constituyen un grupo de gran interés evolutivo en cuanto a sus estrategias reproductivas, dado que los patrones de desarrollo del tracto genital y la diferenciación sexual en estos peces, son más parecidas a los tetrápodos que a los peces óseos (Wourms, 1977, McMillan, 2007). Pese a la diversidad de modos reproductivos presentes en los Elasmobranquios, la morfología general del sistema reproductor es relativamente similar en todo el grupo (Walker, 2005; McMillan, 2007).

La estructura del sistema reproductor de machos y hembras de *A. cyclophora*, incluida la asociación entre las gónadas y el órgano epigonal, concuerda con lo observado en la mayoría de los Rájidos (Wourms, 1977; Pratt, 1988; Hamlett, 1999; Hamlett y Koob, 1999; Engel y Callard, 2005; Walker, 2005; Colonello, 2009; Díaz Andrade *et al.*, 2009, 2011; Serra Pereira *et al.*, 2011b; Wehitt *et al.*, 2015; Moya *et al.*, 2017). El estudio histológico de los testículos, indica que la evolución de la espermatogénesis en esta especie es de tipo cística, a diferencia de los amniotas y algunos peces óseos, donde la misma ocurre dentro de túbulos seminíferos (Pudney, 1995; Andrade *et al.*, 2001). Por otro lado, la organización interna del ovario, el tipo de revestimiento, el patrón de distribución de los folículos y el desarrollo ovocitario, son muy semejantes a las de otros peces cartilaginosos e incluso a algunos osteíctios y a los vertebrados en general (Guraya, 1978; McMillan, 2007).

En muchas especies de condriictios, la fertilización interna ha favorecido la evolución de la agregación espermática, como un mecanismo fiable para la transferencia de esperma del macho a la hembra. Conjuntamente, este empaquetamiento de los espermatozoides, contribuye a la constitución de una unidad estructural más eficiente para la nutrición y almacenamiento de los mismos (Matthews, 1950; Pratt y Tanaka, 1994; Hamlett *et al.*, 1999b; Jones *et al.*, 2005). En este trabajo se concluyó que las secreciones de la glándula de Leydig de *A. cyclophora* contribuirían al fluido seminal de los conductos espermáticos. Por lo tanto, dicha glándula podría tener un papel tanto en la maduración y motilidad de los espermatozoides, como en la agregación espermática, tal como ha sido planteado para otras especies de elasmobranquios (Jones y Lin, 1993; Hamlett *et al.*, 2002b; Reardon *et al.*, 2002; Chatchavalvanich *et al.*, 2005; Jones y Hamlett, 2006). Por otro lado, se comprobó que la vesícula seminal de esta especie, es el sitio de almacenamiento de los

espermatozoides, los cuales se agregan adquiriendo una configuración de tipo *espermatozeugmata*. Con respecto al IGS registrado en los machos, el mismo no arrojó evidencias claras de una variación estacional en actividad reproductiva, lo cual establece la posibilidad de que los machos de *A. cyclophora* tengan la capacidad de producir esperma y de aparearse durante todo el año. Si bien el IGS es útil para mostrar cambios en el tamaño testicular relacionados con la actividad reproductiva, se ha observado en algunas especies que la falta de variación en este índice, no necesariamente implica la ausencia de una temporada definida de apareamiento (Parson y Grier, 1992). En función de esto, se hace evidente la necesidad de estudios histológicos complementarios, que proporcionen una estimación de la producción espermática anual, que permita definir la existencia de una época de apareamiento para esta especie.

El tracto reproductivo de las hembras de *A. cyclophora* se encuentra adaptado a la oviparidad. El grado de desarrollo y complejidad de la glándula oviductal se refleja en la producción de cápsulas rígidas y resistentes, debido principalmente a las especializaciones de la zona *baffle*. Por su parte, las características morfológicas e histológicas del útero, facilitan el desplazamiento de las cápsulas durante la oviposición. Por otro lado, el esquema de reclutamiento de los ovocitos en esta especie, está claramente asociado con su estrategia reproductiva. Al igual que lo observado en otros elasmobranquios ovíparos, las hembras maduras de *A. cyclophora* presentan desarrollo secuencial de folículos ováricos y la capacidad de producir huevos a lo largo del año, con un posible pico en la actividad reproductiva durante la primavera. En las especies de condriictios que presentan un ciclo reproductivo anual, el progreso de la gametogénesis es continuo y coexisten diferentes cohortes de folículos en desarrollo (Colonello, 2009; Serra Pereira *et al.*, 2011b; Waltrick *et al.*, 2016). Si bien en este trabajo se determinó que la acumulación de vitelo puede comenzar en folículos de 1 mm, no es posible saber si formarán parte de la camada en desarrollo o de la camada de ovulación, dado que se desconoce la dinámica de maduración de los mismos. Con respecto a la talla de ovulación, *A. cyclophora* presenta una talla media de ovulación entre 26 y 30 mm (Oddone y Vooren, 2005; Oddone *et al.*, 2008; en este trabajo). En general, el diámetro máximo folicular que alcanzan los folículos ováricos también es característico del modo reproductivo. Las especies lecitotróficas se caracterizan por la producción de folículos ováricos relativamente grandes, ya que estos almacenan más nutrientes que serán utilizados por el futuro embrión. Sin embargo, otras variables también participan en la definición final de la talla folicular de ovulación. El tamaño de la madre, el de la cavidad abdominal, la resistencia física de la zona pelúcida, la frecuencia de oviposición, la duración del período de puesta y el tiempo de desarrollo embrionario, son todas variables que deben ser consideradas (Díaz Andrade *et al.*, 2018).

Los condriictios, se caracterizan por presentar dimorfismo sexual secundario, maduración tardía (entre un 60 - 90% de la talla máxima, para Rájidos; Frisk, 2010),

crecimiento lento (coeficiente de crecimiento $k = 0,117 \text{ año}^{-1}$; Serra-Pereira *et al.* 2008) y baja fecundidad (para *R. clavata*, fecundidad máxima de 140 a 150 huevos por hembra, por año; Holden *et al.*, 1971; Holden 1975). *Atlantoraja cyclophora* presenta dimorfismo sexual secundario en el tamaño y la forma corporal, siendo las hembras más anchas y pesadas que los machos para una misma longitud. Este dimorfismo comienza en individuos inmaduros y se acrecienta con el inicio de la madurez sexual. En lo que respecta a este punto, la LT_{50} estimada en este trabajo determina que los individuos de *A. cyclophora* presentan una etapa juvenil extendida y una vez alcanzada la madurez sexual la mayor parte de la energía del individuo sería destinada a la reproducción. Con respecto a los valores de talla máxima y de madurez sexual estimados en este trabajo, los mismos resultaron mayores a los registrados para la población del Distrito Sudbrasileño (Oddone y Vooren, 2005; Oddone *et al.*, 2008) y concuerdan con la tendencia que presentan algunos condriictios sobre el incremento de los parámetros reproductivos acorde a la latitud. En muchas especies de elasmobranchios, se ha observado que las poblaciones de latitudes más altas, muestran un crecimiento más lento y alcanzan mayor tamaño que las poblaciones de latitudes más bajas (Templeman, 1987; Carlson y Parsons 1997; Chiaramonte y Pettovello, 2000; Yamaguchi *et al.*, 2000; Frisk y Miller, 2006; 2009). Las variaciones en los patrones de la historia de vida asociados a gradientes latitudinales, son el resultado de los cambios inducidos por la temperatura en el crecimiento y el metabolismo (Conover 1998; Billerbeck *et al.*, 2000). Por lo tanto, las diferencias regionales en estos parámetros deberían ser consideradas al aplicar evaluaciones y estrategias de manejo del recurso (Dulvy y Reynolds 2002; Frisk y Miller 2006; Ebert *et al.*, 2008).

La población de *A. cyclophora* en el Distrito Bonaerense (entre los 34° y 42°S , profundidad inferior a 50 m) se compone principalmente por individuos juveniles y no existirían diferencias significativas en cuanto a la proporción de sexos entre los individuos adultos. Dentro del área de estudio, la especie presenta un patrón de distribución heterogéneo, concentrándose principalmente sobre la costa este y sur de Uruguay y en el área de El Rincón. En ambos sitios, *A. cyclophora* presenta preferencia por la profundidad y no sería afectada de manera significativa por las variaciones estacionales de temperatura de fondo. Tampoco existiría una estacionalidad reproductiva definida. Sin embargo, este hecho debería ser corroborado con mayores estudios, dado el ciclo reproductivo que presenta esta especie y la mayor proporción de individuos adultos observados cercanos a la costa, durante la primavera.

La región costera bonaerense alberga una gran diversidad de especies de condriictios y constituye un ambiente propicio para el desarrollo de sus ciclos de vida. Tanto el área del Río de la Plata como El Rincón, son áreas sensibles que funcionan como sitios de apareamiento, de cría y de puesta de muchas especies (Massa *et al.*, 2004; Mabrugaña *et al.*, 2002; Colonello, 2009; Cortés, 2012). En este contexto, las especies con preferencia de hábitat específicos para la puesta o parición, serían más vulnerables a los efectos de la explotación y a los cambios ambientales que aquellos

que no tienen preferencia por hábitats particulares (Cortés, 2012). Las aguas costeras serían un lugar importante de concentración de individuos juveniles y de hembras con huevos de *A. cyclophora*, por lo cual las capturas en esta región estarían afectando principalmente a estos estadios ontogenéticos.

Como se mencionó anteriormente, el Distrito Bonaerense constituye una zona donde se declaran las mayores proporciones de las capturas de condriktios, incluyendo rayas (Massa *et al.*, 2004). *Atlantoraja cyclophora* es capturada principalmente por pesquerías que utilizan redes de arrastre de fondo y, según su tamaño, es conservada con fines comerciales o descartada (Massa *et al.*, 2004; Tamini *et al.*, 2006; Perez Comesaña *et al.*, 2011). La supervivencia a esta práctica es especie-específica (Fennessy, 1994; Chiaramonte *et al.*, 2011) y *A. cyclophora* presenta un índice de resistencia y una tasa de recuperación baja, comparado con otras especies que habitan el área de estudio (Chiaramonte *et al.*, 2011), por lo que su devolución al mar no aseguraría la supervivencia de los individuos. Otro aspecto a considerar es que esta especie es declarada en la estadística pesquera dentro de la categoría “raya”. Esta metodología no discrimina a nivel específico y por lo tanto considera como similares a especies que tienen parámetros de historia de vida muy diferentes y no son igualmente vulnerables a la explotación comercial intensiva. Esto, no solo oculta los efectos de la explotación a nivel específico, sino que también enmascara los cambios de estructura de la comunidad y la reducción de las poblaciones (Casey y Myers, 1998; Dulvy, 2000; Musick, 2005). Por lo tanto, resulta fundamental incrementar las evaluaciones y el monitoreo de las capturas a nivel específico, para poder analizar y comprender los factores que afectan la vulnerabilidad de esta y otras especies frente a la presión pesquera.

Los resultados del trabajo confirman la hipótesis planteada, en cuanto a que *A. cyclophora* es una especie con una extensa etapa juvenil durante su ciclo de vida, lo que sumado a otros rasgos de su biología previamente mencionados, la hacen particularmente vulnerable a la explotación comercial. Es por ello que la información sobre la ecología reproductiva aportada en esta tesis, además de su interés biológico, puede ser de utilidad para la elaboración de medidas de manejo y conservación de esta especie.

Conclusiones principales

- La estructura del sistema reproductor de *A. cyclophora*, incluida la asociación entre las gónadas y el órgano epigonal, concuerda con lo observado en la mayoría de los Rájidos.
- La anatomía del testículo de *A. cyclophora* adscribe al modelo de “tipo compuesto”

- El proceso de la espermatogénesis es similar al de otros peces cartilaginosos.
- Se observó que el desarrollo de los espermatocistos y la consecuente zonación del testículo, ocurre a partir de una zona germinal, como sucede en otros peces cartilaginosos y también en algunos anfibios urodelos.
- La maduración testicular puede ocurrir cuando el individuo aún posee los *claspers* flexibles y no calcificados.
- La reorganización y agregación espermática en *A. cyclophora* es progresiva y resulta en un empaquetamiento similar al de tipo *espermatozeugmata*, en la vesícula seminal.
- Se hallaron estructuras similares a los citoplastos asociados a los espermatozoides, tanto en el interior del cisto como en la vesícula seminal.
- El epitelio que recubre al epidídimo y al conducto deferente, inicia como un epitelio simple cilíndrico ciliado en el epidídimo proximal y luego se pliega tomando el aspecto de pseudoestratificado hacia la porción más distal del conducto deferente.
- El revestimiento epitelial de la glándula de Leydig responde al modelo de otros elasmobranquios y holocéfalos. La presencia de secreción AB positiva en el lumen de dicha glándula y en los conductos espermáticos evidenciaría su contribución a la conformación del líquido seminal.
- Los ovarios de *A. cyclophora* adscriben al modelo de “tipo externo” y presentan simetría morfológica y funcional. La organización interna del ovario, el tipo de revestimiento, el patrón de distribución de los folículos y el desarrollo ovocitario, concuerda con lo observado en otros batoideos.
- Se observó estratificación del epitelio folicular a lo largo de la maduración ovocitaria y la presencia de al menos dos tipos celulares conformando la granulosa.
- A nivel microscópico se determinó que la vitelogénesis comienza en folículos de aproximadamente 1,7 mm de diámetro medio, por lo tanto un porcentaje de los folículos de color blanco observados macroscópicamente podrían estar ya comprometidos con su función reproductiva.

- La organización del cuerpo lúteo observada en este trabajo, concuerda con lo registrado en otras especies y pareciera ser similar tanto en elasmobranquios ovíparos como vivíparos.
- El oviducto presenta una túnica muscular muy desarrollada por lo cual el transporte podría efectuarse por el movimiento ciliar, más el auxilio de contracciones musculares.
- El diseño funcional de la glándula oviductal de *A. cyclophora* concuerda con lo observado en la mayoría de los elasmobranquios. La presencia de glucoproteínas ácidas y neutras en las zonas *club* y *papillary*, es variable en el clado, aunque ha sido reportada en otras especies.
- El hecho de que no se haya observado la presencia de espermatozoides dentro de la glándula oviductal de *A. cyclophora*, podría sugerir que las hembras de esta especie no utilizan el almacenamiento de esperma a largo plazo, aunque se requeriría un tamaño de muestra mucho mayor y muestreos a lo largo del año para confirmar esto.
- La presencia de glucoproteínas ácidas y neutras en las células mucosas del epitelio de revestimiento uterino, sugiere una función lubricante que, junto con el movimiento ciliar y la contracción muscular, facilitaría el desplazamiento de la cápsula. La presencia conjunta de ambos tipos de glucoproteínas fue demostrada en pocas especies.
- Se halló dimorfismo sexual en cuanto a las relaciones morfométricas LT-AD y LT-PT, siendo las hembras más anchas y pesadas que los machos, para una misma longitud.
- Se detectó un cambio en la morfología de los individuos de *A. cyclophora* alrededor de 290 mm LT, lo cual concuerda con el crecimiento alométrico positivo observado para las hembras.
- La LT máxima y LT₅₀ registrada para los machos fue 674 mm LT y 537 mm LT, respectivamente. Para las hembras la LT máxima fue 709 mm y la LT₅₀ 570 mm LT.
- Se registró dimorfismo sexual en las LT máximas y en las tallas de madurez. Las hembras de *A. cyclophora* alcanzan LT máximas y tallas de madurez mayores que los machos.

- La LT máxima y la LT₅₀ registradas aquí fueron similares a las reportadas previamente en las aguas del norte de la Patagonia y mayores que los registrados para individuos del Distrito Sudbrasileño, lo que concuerda con la tendencia del incremento de estos parámetros acorde al aumento en la latitud.

- La relación entre el largo interno de los *claspers*, junto con el aumento en el número de filas de espinas alares en función de la LT, fueron los mejores parámetros macroscópicos que representaron el inicio de la madurez sexual en los machos.

- En base al estudio realizado, está claro que *A. cyclophora* es una especie que presenta madurez tardía. Los individuos, exhiben una etapa juvenil extendida y llegan a la madurez cuando alcanzan el 79.7% (machos) y el 80.4% (hembras) de su longitud total.

- Según la distribución de frecuencias del DMF registrada en este trabajo, la talla media de ovulación es de 26 mm.

- *A. cyclophora* presenta un ciclo anual con un posible pico en la actividad reproductiva durante la primavera, que podría resultar en un patrón reproductivo mixto, entre costero y de altura.

- La actividad reproductiva de los machos de *A. cyclophora* fue continua durante todo el año, dada la falta de variación en el IGS entre temporadas, lo que sugiere la posibilidad de que los machos tengan la capacidad de producir esperma durante todo el año.

- *A. cyclophora* se distribuye de manera agregada dentro del área de estudio, concentrándose principalmente sobre la costa este y sur de Uruguay y en el área de El Rincón.

- La población de *A. cyclophora* en el Distrito Bonaerense, se compone principalmente por individuos juveniles y no hay diferencias en cuanto a la proporción de sexos entre los individuos adultos.

- La frecuencia de ocurrencia de la especie fue mayor durante la primavera, lo que podría estar relacionado con un desplazamiento de los individuos adultos en sentido longitudinal durante distintas estaciones.

- *A. cyclophora* fue capturada entre los 10,9 y 53,6 m de profundidad (valor medio: 29,2 m), los 8,5 y 19,2°C de temperatura (valor medio: 14,3°C) y 26,6 y 34,1 de salinidad (valor medio: 32,9 ppm).

- Tanto en el Río de la Plata como en El Rincón, los juveniles predominan desde aguas someras (10 m) hasta la isobata de los 50 m, mientras que los adultos se concentran a profundidades mayores a 30 m, en particular los machos.
- No se evidencia un patrón de agregación de hembras que conformen un área exclusiva de puesta.
- La vulnerabilidad de *A. cyclophora* a la explotación, sugiere la necesidad de intensificar los estudios biológicos pesqueros a nivel específico, además de la evaluación de las áreas sensibles donde esta especie cumple su ciclo de vida, con el fin de elaborar medidas de manejo para su conservación.

Referencias Bibliográficas

Acha, E.M., Piola, A., Iribarne, O., Mianzan, H. 2015. Ecological Processes at Marine Fronts. Oases in the Ocean. Springer International Publishing, 68 pp.

Acha, E.M., Mianzan, H.W., Guerrero, R.A., Favero, M., Bava, J. 2004. Marine fronts at the continental shelves of austral South America. Physical and ecological processes. *J. Mar. Sys.* 44:83-105.

Andrade, R.F., Bazzoli, N., Rizzo, E. y Sato, Y. 2001. Continuous gametogenesis in the neotropical freshwater teleost, *Bryconops affinis* (Pisces: Characidae). *Tissue Cell.* 33(5):524-532.

Aubone, A. y Wöhler, O.C. 2000. Aplicación del método de máxima verosimilitud a la estimación de parámetros y comparación de curvas de crecimiento de von Bertalanffy. INIDEP Inf. Téc. N° 37.

Awruch, C.A. 2013. Reproductive endocrinology in Chondrichthyans: The present and the future. *Gen. Comp. Endocrinol.* 192:60-70.

Awruch, C.A. 2015. Reproduction strategies. En: Shadwick, R., Fanell, A. y Brauller, C. (Eds.). Physiology of elasmobranchs fishes: structure and interaction with environment. Vol. 34 A. Academic Press, 255-310p.

Barbini, S.A. y Lucifora, L.O. 2016. Diet composition and feeding habits of the eyespot skate, *Atlantoraja cyclophora* (Elasmobranchii: Arhynchobatidae), off Uruguay and northern Argentina. *Neotrop. Ichthyol.* 14(3): e160032,

Barone, M., De Ranieri, S., Fabiani, O., Pirone, A. y Serena, F. 2007. Gametogenesis and maturity stages scale of *Raja asterias* Delaroche, 1809 (Chondrichthyes, Rajidae) from the South Ligurian Sea. *Hydrobiol.* 580:245-254.

Bernasconi, J.F. 2018. Características de historia de vida del pez gallo *Callorhynchus callorhynchus*, el tiburón gatuzo *Mustelus schmitti* y la raya ojona *Atlantoraja cyclophora* en el Golfo San Matías, Patagonia Norte, Argentina. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina, 238 pp.

Bernasconi, J.F., Navarro, G. 2014. Área Gestión de Pesquerías – DNPP. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Inf. GP N° 11.

Beverton, R.J.H., Holt, S.J. 1959. A review of the lifespans and mortality rates of fish in nature, and their relation to growth and other physiological characteristics. En: Wolstenholme, G.E.W. y O'Connor, M. (Eds.). Ciba Foundation Symposium. The Lifespan of Animals (Colloquia on Ageing). Vol. 5. John Wiley & Sons, Ltd, 142-180p.

- Billerbeck, J.M., Schultz, E.T y Conover, D.O. 2000.** Adaptive variation in energy acquisition and allocation among latitudinal populations of the Atlantic silverside. *Oecologia*. 122:210–219.
- Bircan-Yildirim, Y., Çek, Ş., Başusta, N. y Atik, E. 2011.** Histology and Morphology of The Epigonal Organ with Special Reference to the Lymphomyeloid System in *Rhinobatos rhinobatos*. *Turk. J. Fish. Aquatic Sci.* 11:351-358.
- Bonfil, R. 1994.** Overview of World Elasmobranch Fisheries. FAO Fish. Tech. Pap. 341. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 119 pp.
- Bonfil, R. 2005.** The purpose of stock assessment and the objectives of fisheries Management. En: Musick, J.A. y Bonfil, R. (Eds). Management techniques for elasmobranch fisheries. FAO Fish. Tech. Pap. Nº 474. Rome, 6-14 p.
- Braccin, J.M., Chiaramonte, G.E. 2002.** Reproductive biology of *Psammobatis extenta*. *J. Fish Biol.* 61(1):272-88.
- Cailliet, G.M., Musick, J.A., Simpfendorfer, C.A. y Stevens, J.D. 2005.** Ecology and life history characteristics of chondrichthyan fish. En: Fowler, S.L., Cavanagh, R.D., Camhi, M., Burgess, G.H., Cailliet, G., Fordham, S.V., Simpfendorfer, C.A. y Musick, J.A. (Eds). Sharks, Rays and Chimaeras: The Status of the Chondrichthyan Fishes, Status Survey. IUCN Shark Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 12-18p.
- Callard, I.P., Klosterman, L.L., Sorbera, L.A., Fileti, L.A., Reese, J.C. 1989.** Endocrine regulation of reproduction in elasmobranchs: Archetype for terrestrial vertebrates. *J. Exp. Zool.* 252:12–22.
- Camhi, M., Fowler, S.L., Musick, J.A., Bräutigam, A. y Fordham, S.V. 1998.** Sharks and their Relatives. Ecology and Conservation. IUCN-SSC Shark Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 39 pp.
- Capapé, C., Ben Souissi, J., Méjri, H., Guélorget, O. y Hemida, F. 2005.** The reproductive biology of the school shark, *Galeorhinus galeus* Linnaeus 1758 (Chondrichthyes: Triakidae), from the Maghreb shore (southern Mediterranean). *Acta Adriat.* 46(2):109- 124.
- Carlson, J.K. y Parsons, G.R. 1997.** Age and growth of the bonnethead shark, *Sphyrna tiburo*, from northwest Florida, with comments on clinal variation. *Environ. Biol. Fish.* 50:331-341.
- Carozza, C.R., Navarro, L., Jaureguizar, A.J. y Lasta, C.A. 2001.** Asociación íctica costera bonaerense “variado costero”. INIDEP Inf. Téc. Nº48.

- Carrier, J.C., Pratt, H.L. y Castro Jr., J.I. 2004.** Reproductive biology of elasmobranchs. En: Carrier, J.C.; Musick, J.A. y Heithaus, M.R. (Eds.). Biology of sharks and their relatives. CRC Press, Boca Raton, Florida, 269-286 p.
- Castro, J.I. 1993.** The shark nursery of Bulls Bay, South Carolina, with a review of the shark nurseries of the southeastern coast of the United States. *Environ. Biol. Fish.* 38:37-48.
- Casey, J.M. y Myers, R.A. 1998.** Near extinction of a large widely distributed fish. *Science*. 5377:690-692.
- Cedrola P.V., González A.M., Pettovello, A.D. 2005.** Bycatch of skates (Elasmobranchii: Arhynchobatidae, Rajidae) in the Patagonian red shrimp fishery. *Fish. Res.* 71:141-150.
- Chatchavalvanich, K., Thongpan, A. y Nakai, M. 2005.** Structure of the testis and genital duct of freshwater stingray, *Himantura signifer* (Elasmobranchii: Myliobatiformes: Dasyatidae). *Ichthyol. Res.* 52:123-131.
- Chatchavalvanich, K. y Visutthipat, R. 1994.** Gross and microscopic structures of the male reproductive system in the whip-tail stingray (*Dasyatis bleekeri*). *Kasetsart. J. Nat. Sci.* 28:556-567.
- Chiaromonte, G.E. y Pettovello, A.D. 2000.** The biology of *Mustelus schmitti* in southern Patagonia, Argentina. *J. Fish Biol.* 57:930-942.
- Chierichetti, M.A., Scenna, L.B., Di Giacomo, E.E., Ondarza, P.M., Figueroa, D.E. y Miglioranza, K.S.B. 2017.** Reproductive biology of the cockfish, *Callorhynchus callorhynchus* (Chondrichthyes: Callorhynchidae), in coastal waters of the northern Argentinean Sea. *Neotrop. Ichthyol.* 15(2): e160137.
- Coller, N.M., Perier, M.R., Di Giacomo, E.E. 2011.** Dimorfismo sexual y relaciones morfométricas de *Atlantoraja platana* (Günther, 1880) en aguas del golfo San Matías, Patagonia. *Rev. Mus. Argent. Cienc. Nat.* 13(1):1-5.
- Collin, S. 2012.** The Neuroecology of Cartilaginous Fishes: Sensory Strategies for Survival. *Brain Behav. Evol.* 80:80-96.
- Colonello, J.H. 2009.** Ecología reproductiva de tres batoideos (Chondrichthyes): *Atlantoraja castelnaui* (Rajidae), *Rioraja agassizi* (Rajidae) y *Zapteryx brevirostris* (Rhinochordidae). Implicancias de distintas estrategias adaptativas en un escenario de explotación comercial intensiva. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 183 pp.
- Colonello JH, Christiansen, H.E. y Macchi, G.J. 2007a.** Escala de madurez sexual para peces cartilaginosos de la Plataforma Continental Argentina. INIDEP Inf. Téc. Nº 74.

Colonello, J.H., Cortés, F., Belleggia, M., Massa, A.M. 2016. Reproductive and population parameters of spiny dogfish *Squalus acanthias* in the south-western Atlantic Ocean. *J. Fish Biol.* 88(5):1758-75.

Colonello JH, García ML, Lasta CA. 2007b. Reproductive biology of *Rioraja agassizi* from the coastal southwestern Atlantic ecosystem between northern Uruguay (34°S) and northern Argentina (42°S). *Environ. Biol. Fish.* 80(2-3):277-84.

Colonello, J.H., García, M.L., Lasta, C.A., Menni, R.C. 2012. Reproductive biology of the spotback skate *Atlantoraja castelnaui* in the south-west Atlantic Ocean. *J. Fish Biol.* 80(7):2405-19.

Colonello, J.H., Lucifora, L.O., Massa, A.M. 2007c. Reproduction of the angular angel shark (*Squatina guggenheim*): geographic differences, reproductive cycle, and sexual dimorphism. *ICES J. Mar. Sci.* 64(1):131-40.

Conover, D.O. 1998. Local adaptation in marine fishes: evidence and implications for stock enhancement. *Bull. Mar. Sci.* 62:477-493.

Conrath, C.L. 2005. Reproductive Biology. En: Musick, J.A. y Bonfil, R. (Eds). Management techniques for elasmobranch fisheries. FAO Fish. Tech. Pap. Nº 474. Rome, 103-126p.

Compagno, L.J.V. 1990. Alternate life history styles of cartilaginous fishes in time and space. *Environ. Biol. Fish.* 28:33-75.

Cortés, E. 2000. Life History Patterns and Correlations in Sharks. *Rev. Fish. Sci.* 8(4):299-344.

Cortés, F. 2012. Hábitats esenciales de condriictios (Chondrichthyes) costeros, y su relación con los procesos oceanográficos. Tesis Doctoral, Mar del Plata, Argentina, 213 pp.

Cortés, F., Jaureguizar, A.J., Menni, R.C. y Guerrero, R.A. 2011. Ontogenetic habitat preferences of the narrownose smooth-hound shark, *Mustelus schmitti*, in two Southwestern Atlantic coastal areas. *Hydrobiologia.* 661:445-456.

Cousseau, M.B., Figueroa, D.E., Díaz de Astarloa, J.M., Mabragaña, E., Lucifora, L.O. 2007. Rayas, chuchos y otros batoideos del Atlántico sudoccidental (34°S-55°S). INIDEP, Mar del Plata, 102pp.

Da Silva, M.I., Braga De Oliveira, M.I., Ferreira Da Costa, O. y Duncan, W.P. 2017. Morphology and Morphometry of the Ovaries and Uteri of the Amazonian Freshwater Stingrays (Potamotrygonidae: Elasmobranchii). *Anat. Rec.* 300:265-276.

Davenport, I.R., Weaver, A.L. y Wourms, J.P. 2011. A Novel Set of Structures within the Elasmobranch, Ovarian Follicle. *J. Morphol.* 5:557-565.

Dunbar, M., Onuora, C., Morgan, S., Stone, F.E., Huckaba, T.M. y Davenport, I.R. 2017. Follicle cell processes: a shark thing?. *J. Fish Biol.* 90:1031-1036.

Díaz Andrade, M.C. 2010. Morfofisiología de la biología reproductiva de las especies del género *Sympterygia* que habitan el estuario de Bahía Blanca. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina, 243 pp.

Díaz Andrade, M.C., Galíndez, E. y Estecondo, S. 2009. The ovary of the bignose fanskate *Sympterygia acuta* Garman, 1877 (Chondrichthyes, Rajidae) in the Bahía Blanca estuary, Argentina: morphology and reproductive features. *Braz. J. Biol.* 69(2):405-13.

Díaz Andrade, M.C., Galíndez, E.J., López Cazorla, A. y Estecondo, S. 2011. Ovarian folliculogenesis in the Smallnose Fanskate *Sympterygia bonapartii* (Müller & Henle, 1841) (Chondrichthyes, Rajidae). *Int. J. Morphol.* 29(1):174-81.

Díaz Andrade, M.C., Lopez Cazorla, A. y Galíndez, E.J. 2013. Histological Remarks of the Uterus of *Sympterygia acuta* (Garman, 1877) and *Sympterygia bonapartii* (Müller & Henle, 1841) (Chondrichthyes; Rajidae). *Int. J. Morphol.* 31(3):864-872.

Díaz Andrade, M.C., Moya, A.C., Wehitt, A., Di Giácomo, E.E. y Galíndez, E.J. 2018. Observations of follicle cell processes in a holocephalan. *J. Fish Biol.* 93:424–427.

Dodd, J.M. 1983. Reproduction in Cartilaginous Fishes (Chondrichthyes). En: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (Eds.). *Fish Physiology*. Vol. 9. Academic Press, New York, 31-95p.

Dulvy, N.K. y Forrest, R.E. 2010. Life histories, population dynamics and extinction risks in chondrichthyans. En: Carrier, J.C., Musick, J.A. y Heithaus, M.R. (Eds.). *Sharks and their relatives II. Biodiversity, adaptive physiology, and conservation*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 639-679p.

Dulvy, N.K., Metcalfe, J.D., Glainville, J., Pawson, M. y Reynolds, J.D. 2000. Fishery stability, local extinction, and shifts in community structure in skates. *Conserv. Biol.* 14(1):283-293.

Dulvy, N.K. y Reynolds, J.D. 2002. Predicting extinction vulnerability in skates. *Conserv. Biol.* 16:440-450.

Ebert, D.A. y Compagno, L.J.V. 2007. Biodiversity and systematics of skates Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei. *Environ. Biol. Fish.* 80:111–124.

Ebert, D.A. 2005. Reproductive biology of skates, *Bathyraja* (Ishiyama), along the eastern Bering Sea continental slope. *J. Fish. Biol.* 66:618-649.

- Ebert, D.A., Compagno, L.J.V. y Cowley, P.D. 2008a.** Aspects of the reproductive biology of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei) from southern Africa. *ICES J. Mar. Sci.* 65:81-102.
- Ebert, D.A., Smith, W.D. y Cailliet, G.M. 2008b.** Reproductive biology of two commercially exploited skates, *Raja binoculata* and *R. rhina*, in the western Gulf of Alaska. *Fish. Res.* 94:48-57.
- Elisio, M., Colonello, J.H., Cortés, F., Jaureguizar, A.J., Somoza, G.M. y Macchi, G.J. 2016.** Aggregations and reproductive events of the narrownose smooth-hound shark (*Mustelus schmitti*) in relation to temperature and depth in coastal waters of the south-western Atlantic Ocean (38–42°S).
- Engel K.B. y Callard, G.V. 2005.** The Testis and Spermatogenesis. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. NH: Science Publishers Incorporated, Enfield, 171-200 p.
- Estalles, M., Coller, N.M., Perier, M.R., Di Giácomo, E.E. 2011.** Skates in the demersal trawl fishery of San Matías Gulf, Patagonia: species composition, relative abundance and maturity stages. *Aquat. Living Resour.* 24(2):193-99.
- Feng, D. y Knight, D.P. 1992.** Secretion and stabilization of the layers of the egg capsule of the dogfish *Scyliorhynchus*. *Tissue Cell.* 24:773-790.
- Francis, M.P., Maolagáin, C. y Stevens, D. 2001.** Age, growth, and sexual maturity of two New Zealand endemic skates, *Dipturus nasutus* and *D. innominatus*. *New Zeal. J. Mar. Fresh.* 35(4):831-842.
- Frisk, M.G. 2010.** Life history strategies of batoids. En: Carrier, J.C., Musick, J.A. y Heithaus, M.R. (Eds.). Sharks and their relatives II. Biodiversity, adaptive physiology, and conservation. CRC Press, Boca Raton, Florida, 283-316p.
- Frisk, M.G., Miller. T.J. 2006.** Age, growth, and latitudinal patterns of two Rajidae species in the northwestern Atlantic: little skate (*Leucoraja erinacea*) and winter skate (*Leucoraja ocellata*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 63(5):1078-91.
- Frisk, M.G., Miller. T.J. 2006.** Maturation of Little Skate and Winter Skate in the Western Atlantic from Cape Hatteras to Georges Bank. *Mar. Coast. Fish. Dyn. Manag. Ecosyst. Sci.* 1:1-11.
- Frisk, M.G., Miller, T.J. y Fogarty, M.J. 2002.** The population dynamics of little skate *Leucoraja erinacea*, winter skate *Leucoraja ocellata*, and barndoor skate *Dipturus laevis*: predicting exploitation limits using matrix analyses. *ICES J. Mar. Sci.* 59:576-586.
- Froese, R. 2006.** Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *J. Appl. Ichthyol.* 22(4):241-53.

- Galíndez, E.J., Díaz Andrade, M.C., Moya, A.C. y Estecondo, S. 2010.** Morphological changes in the pregnant uterus of the smooth hound dogfish *Mustelus schmitti* (Springer, 1939) (Gatuzo) (Chondrichthyes, Triakidae). Microscopic study and phylogenetic reproductive implications. *Int. J. Morphol.* 28:1003-1010.
- Galíndez, E., Díaz Andrade, M.C., Estecondo, S., 2014.** Morphological indicators of initial reproductive commitment in *Mustelus schmitti* (Springer, 1939) (Chondrichthyes, Triakidae). Folliculogenesis and ovarian structure over the life cycle. *Braz. J. Biol.* 74:154–163.
- Galíndez, E.J. y Estecondo, S. 2008.** Histological remarks of the oviduct and the oviducal gland of *Sympterygia acuta* Garman, 1877. *Braz. J. Biol.* 68(2): 359-365.
- Galíndez, E.J. y Aggio, M.C. 1992.** The granulopoietic organs of the narrow nose smooth hound *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae). A light and electron microscopic study. *Rev. Chil. Anat.* 20(1):49-54.
- Galíndez, E.J. y Aggio, M.C. 1997.** The hemopoietic system: A phylogenetic approach. *Histol. Histopathol.*, 12(3): 823-826.
- Gilmore, R.G., Putz, O. y Dodril, I.J.W. 2005.** Oophagy, Intrauterine Cannibalism and Reproductive Strategy in Lamnoid Sharks. En: Hamlett, W.C. (Ed.). *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras*. NH: Science Publishers Incorporated, Enfield, 435-462.
- Gilmore, R.G., Dodrill, J. y Linley, P. 1983.** Reproduction and embryonic development of the sand tiger shark, *Odontaspis taurus* (Rafinesque). *U.S. Fish. Bull.* 81:201-225.
- Girard, M., Rivalan, P. y Siquin, G. 2000.** Testis and sperm morphology in two deep-water squaloid sharks, *Centroscymnus caelolopis* and *Centrophorus squamosus*. *J. Fish. Biol.* 57: 1575-1589.
- Góngora, M.E., Bovcon, N.D., Cochia, P.D. 2009.** Ictiofauna capturada incidentalmente en la pesquería de langostino patagónico *Pleoticus muelleri* Bate, 1888. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 44(3):583-93.
- Goodwin, N.B., Dulvy, N.K., Reynolds, J.D. 2005.** Macroecology of live-bearing in fishes: latitudinal and depth range comparisons with egg-laying relatives. *Oikos*.110:209-218.
- Grogan, E.D. y Lund, R. 2004.** Origin and relationships of early Chondrichthyes. En: Carrier, J., Musick, J. y Heithaus, R.M. (Eds.). *Biology of sharks and their relatives*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 3-32p.
- Guerrero, R.A. 1998.** Oceanografía física del estuario del Río de la Plata y el sistema costero de El Rincón. En: Lasta, C. (Ed.) *Resultados de una campaña de*

evaluación de recursos demersales costeros de la Provincia de Buenos Aires y del litoral uruguayo. Noviembre 1994. INIDEP Inf. Téc. Int. 21:29-54.

Guerrero, R.A., Acha, E.M., Framiñan, M.B. y Lasta, C.A. 1997. Physical oceanography of the Río de la Plata estuary, Argentina. *Cont. Shelf Res.* 17:727-742.

Guerrero, R.A. y Piola, A.R. 1997. Masas de agua en la plataforma continental. En: Boschi, E. (Ed.). El Mar Argentino y sus Recursos Pesqueros. Tomo I: Antecedentes históricos de las exploraciones en el mar y las características ambientales. INIDEP, Mar del Plata, Argentina, 107-119p.

Guraya, S.S. 1978. Maturation of the follicular wall of nonmammalian vertebrates. En: Jones, R.E (Ed.) The vertebrate ovary: Comparative biology and evolution. Plenum Press, London, 261-329p.

Hamlett, W.C. 1999. Male reproductive system. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Sharks, Skates and Rays. The biology of Elasmobranch Fishes. John Hopkins University Press, Baltimore, 444-470p.

Hamlett, W.C., Musick, J.A, Hysell, C.K. y Sever, D.M. 2002a. Uterine Epithelial-Sperm Interaction, endometrial cycle and sperm storage in the terminal zone of the oviducal gland in the placental smoothhound, *Mustelus canis*. *J. Exp. Zool.* 292:129-144.

Hamlett, W.C., Knight, D.C., Koob, T.J. Jezior, M. Luong, T. Rzycki, T. Brunette, N. y Hysell, M.K. 1998. Survey of oviducal gland structure and function in Elasmobranchs. *J. Exp. Zool.* 282:399-420.

Hamlett, W.C. y Hysell, M.K. 1998. Uterine Specializations in Elasmobranchs. *J. Exp. Zool.* 282:438-459.

Hamlett, W.C., Hysell, M.K., Jezior, M., Rzycki, T., Brunet, N., Tumilty, K. 1999a. Fundamental zonation in elasmobranch oviducal glands. *Soc. Fr. Ichtyol.* 271-280.

Hamlett, W.C., Hysell, M.K., Rzycki, T., Brunet, N., Tumilty, K., Henderson, A. y Dunne, J. 1999b. Sperm aggregation and spermatozeugmata formation in the male genital ducts in the clearnose skate, *Raja eglanteria*. *Soc. Fr. Ichtyol.* 281-291.

Hamlett, W.C., Jezior, M., y Spieler, R. 1999c. Ultrastructural analysis of folliculogenesis in the ovary of the yellow spotted stingray, *Urolophus jamaicensis*. *Ann. Anat.* 181:159-172.

Hamlett, W.C., Reardon, M., Clark, J. y Walker, T.I. 2002b. Ultrastructure of sperm storage and male genital ducts in a male Holocephalan, the elephant fish, *Callorhynchus milii*. *J. Exp. Zool.* 292:111-128.

- Hamlett, W.C. y Koob, T.J. 1999.** Female reproductive system. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Sharks, Skates and Rays. The biology of Elasmobranch Fishes. John Hopkins University Press, Baltimore, 398-443p.
- Hamlett, W.C., Kormanik, G., Storrie, M., Stevens, B. y Walker, T.L. 2005a.** Chondrichthyan parity, lecithotrophy and matrotrophy. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. NH: Science Publishers Incorporated, Enfield, 395-434p.
- Hamlett, W.C., Jones, C.J.P. y Paulesu, L.R. 2005b.** Placentotrophy in sharks. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. NH: Science Publishers Incorporated, Enfield, 463-502p.
- Hamlett, W.C., Knight, D.P., Pereira, F.T.V., Steele, J. y Sever, D.M. 2005c.** Oviducal glands in Chondrichthyes. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. NH: Science Publishers Incorporated, Enfield, 301-336.
- Hanchet, S. 1988.** Reproductive biology of *Squalus acanthias* from the east coast, South Island, New Zealand. *New Zeal. J. Mar. Fresh.* 22:537- 549.
- Henderson, A.C., Reeve, A.J. y Ambu-Ali, A. 2014.** Microanatomy of the male and female reproductive tracts in the long-tailed butterfly ray *Gymnura poecilura*, an elasmobranch with unusual characteristics. *J. Fish. Biol.* 84:297-313.
- Hoenig, J.M. y Gruber, S.H. 1990.** Life-story patterns in the elasmobranchs: implications for fisheries management. En: Pratt, H.L., Gruber, S.H. y Taniuchi, T. (Eds.). Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries. NOAA Tec. Rep. NMFS. 90:1-16.
- Holden, M.J. 1975.** The fecundity of *Raja clavata* in British waters. *J. Cons. Int. Explor. Mer.* 36(2):110-118.
- Holden, M.J., Rout, D.W. y Humphreys, C.N. 1971.** The rate of egg laying by three species of ray. *J. Cons. Int. Explor. Mer.* 33(3):335-339.
- Holt, W.V. y Lloyd, R.E. 2009.** Sperm storage in the vertebrate female reproductive tract: How does it work so well?. *Theriogenology.* 73:713-722.
- Honma, Y., Okabe, K. y Chiba, A. 1984.** Comparative histology of the Leydig and epigonal organs in some elasmobranchs. *Jap. J. Ichthyol.* 31:47-54.
- Hopkins, T.E. y Cech, J.J. 2003.** The influence of environmental variables on the distribution and abundance of three elasmobranchs in Tomales Bay, California. *Environ. Biol. Fish.* 66:279-291.

- Hotchkiss, R. 1948.** A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. *Arch. Bioch.* 16: 131.
- Hozbor, N.M. y Massa, A.M. 2012.** Explotación del conjunto de especies de la familia Rajidae por parte de la flota Argentina. Periodo 1992- 2011. INIDEP Inf. Téc. Nº 55.
- Hunter, E., Buckley, A.A., Stewart, C. y Metcalf, J.D. 2005a.** Repeated seasonal migration by a thornback ray in the southern North Sea. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 85:1199-1200.
- Hunter, E., Buckley, A.A., Stewart, C. y Metcalf, J.D. 2005b.** Migratory behaviour of the thornback ray *Raja clavata*, in the southern North Sea. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 85:1095-1105.
- InfoStat. 2008.** Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Editorial Brujas, Argentina. 334 pp.
- Iorio, M.I., Macchi, G., Fishbach, C.E. y Christiansen, H.E. 1996.** Estudios sobre la dinámica reproductiva del langostino (*Pleoticus muelleri*) en el área de Bahía Blanca (Provincia de Buenos Aires, República Argentina). *Frente Marítimo.* 16:111-118.
- Jacoby, D.M.P., Darren, P., Croft, D.P. y Sims, D.W. 2012.** Social behaviour in sharks and rays: analysis, patterns and implications for conservation. *Fish Fish.* 13:399-417.
- Jaureguizar, A.J., Menni, R., Guerrero, R., Lasta, C. 2004.** Environmental factors structuring fish communities of the Rio de la Plata estuary. *Fish. Res.* 66: 195-211.
- Jaureguizar, A.J., Menni, R.C., Lasta, C.A. y Guerrero, R.A. 2006.** Fish assemblages of the northern Argentine coastal system: spatial patterns and their temporal variations. *Fish. Oceanogr.* 15:326-344.
- Jirik, K.E. y Lowe, C.G. 2012.** An elasmobranch maternity ward: female round stingrays *Urolophus halleri* use warm, restored estuarine habitat during gestation. *J. Fish Biol.* 80:1227-1245.
- Jones, C.J.P. y Hamlett, W.C. 2006.** Ultrastructure of the male genital ducts of the clearnose skate *Raja eglanteria*. *J. Exp. Zool.* 305(A):1018–1029.
- Jones, C.J.P., Walker, T.I., Bell, J.D., Reardon, M.B., Ambrosio, C.E., Almeida, A. y Hamlett, W.C. 2005.** Male genital ducts and copulatory appendages in Chondrichthyans. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. NH: Science Publishers Incorporated, Enfield, 361-394p.

- Jones, R.C., Jones, N. y Djakiew, D. 1984.** Luminal composition and maturation of spermatozoa in the male genital ducts of the Port Jackson shark, *Heterodontus portusjacksoni*. *Exp. Zool.* 230:417-426.
- Jones, R.C. y Lin, M. 1993.** Structure and functions of the genital ducts of the male Port Jackson shark, *Heterodontus portusjacksoni*. *Environ. Biol. Fish.* 38:127-138.
- Jons, G.D. y Miranda, L.E. 1997.** Ovarian weight as an index of fecundity, maturity, and spawning periodicity. *J. of Fish Biol.* 50:150–156.
- Klimley, A.P. 2015.** The biology of sharks and rays. University of Chicago Press, Chicago & London, 528 pp.
- Knight, D.P., Feng, D. y Stewart, M. 1996.** Structure and function of the salachian egg case. *Biol. Rev.* 71:81-111
- Koob, T.J. 1991.** Deposition and binding of calcium and magnesium in egg capsules of *Raja erinacea* Mitchill during formation and tanning in utero. *Copeia.* 2:339-347.
- Koob, T.J., Callard, I.P. 1991.** Reproduction in female elasmobranchs. En: Kinne, R.K.H., (Ed.). Oogenesis, spermatogenesis and reproduction. Basel, Switzerland, 155–209p.
- Koob, T.J. y Cox, D.L. 1988.** Egg capsule catechol oxidase from the little skate *Raja erinacea* Mitchill, 1825. *Biol. Bull.* 175:202-211.
- Koob, T.J y Cox, D.L. 1990.** Introduction and oxidation of catechols during the formation of the skate (*Raja erinacea*) egg capsule. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 70:395-411.
- Koob, T.J y Cox, D.L. 1993.** Stabilization and sclerotization of *Raja erinacea* egg capsule proteins. *Environ. Biol. Fish.* 38:151-157.
- Koob, T.J. y Hamlett, W.C. 1998.** Microscopic structure of the gravid uterus in the little skate, *Raja erinacea*. *J. Exp. Zool.* 282:421-437.
- Koob, T.J. y Straus, J.W. (1988).** On the role of egg jelly in *Raja erinacea* egg capsule. *Bull. MT Desert Island Biol. Lab.* 71:117-119.
- Lasta, C.A., Ruarte, C.O. y Carozza, C.R. 2001.** Flota costera argentina: antecedentes y situación actual. En: Bertolotti, M.I., Verazay, G.A. y Akselman, R., (Eds.). El Mar Argentino y sus recursos pesqueros. Tomo 3: Evolución de la flota pesquera argentina, artes de pesca y dispositivos selectivos. INIDEP, Argentina, 89-119p.
- Lasta, C.A., C.R. Carozza, C.O. Ruarte & A.J. Jaureguizar. 1999.** Ordenamiento pesquero en el ecosistema costero bonaerense. INIDEP Inf. Téc. Nº25.

- Leonard, B.K., Summers, A.P., Koob, T.J. 1999.** Metabolic rate of embryonic little skate, *Raja erinacea* (Chondrichthyes: Batoidea): the cost of active pumping. *J. Exp. Zool.* 283(1): 13e18.
- Licandeo, R. y Cerna, F.T. 2007.** Geographic variation in life-history traits of the endemic kite skate *Dipturus chilensis* (Batoidea: Rajidae), along its distribution in the fjords and channels of southern Chile. *J. Fish. Biol.* 71(2):421-40.
- Lucas, A.J., Guerrero, R.A., Mianzan, H.W., Acha, E.M. y Lasta, C.A. 2005.** Coastal oceanographic regimes of the Northern Argentine Continental Shelf (34-43°S). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 65:405-420.
- Lucifora, L.O. y García, V.B. 2004.** Gastropod predation on egg cases of skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Southwestern Atlantic: quantification and life history implications. *Mar. Biol.* 145(5):917-922.
- Lutton, B.V. y Callard, I.P. 2008.** Influence of reproductive activity, sex steroids, and seasonality on epigonal organ cellular proliferation in the skate (*Leucoraja erinacea*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 155:116-125.
- Lutton, B.V., George, J., Murrin, C.R, Fileti, L.A. y Callard, I.P. 2005.** The Elasmobranch ovary. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. NH: Science Publishers Incorporated, Enfield, 237-282p.
- Mabragaña, E., Cousseau, M.B. 2004.** Reproductive biology of two sympatric skates in the south-west Atlantic: *Psammobatis rudis* and *Psammobatis normani*. *J. Fish Biol.* 65(2):559-73.
- Mabragaña, E., Lucifora, L.O., Massa, A.M. 2002.** The reproductive ecology and abundance of *Sympterygia bonapartii* endemic to the south-west Atlantic. *J. Fish Biol.* 60(4):951-67.
- Macchi, G.J. y Acha, E.M. 1998.** Aspectos reproductivos de las principales especies de peces en la zona común de pesca Argentino Uruguayo y en El Rincón. Noviembre 1994. INIDEP. Inf. Téc. Int. 21:67-89.
- Marongiu, M.F., Porcu, C., Bellodi, A., Cuccu, D., Mulas, A. y Follesa, M.C. 2015.** Oviducal gland microstructure of *Raja miraletus* and *Dipturus oxyrinchus* (Elasmobranchii, Rajidae). *J. Morphol.* 276:1392-1403.
- Maruska, K.P., Cowie, E.G. y Tricas, T.C. 1996.** Periodic gonadal activity and protracted mating in elasmobranchs fishes. *J. Exp. Zool.* 276:219-232.
- Massa, A.M, Hozbor, N.M. 2011.** Evolución de las estimaciones de abundancia de los peces cartilaginosos demersales de mayor valor comercial del Atlántico Sudoccidental capturados entre 34° y 41°S a profundidades menores a 50 m. Parte 2. Los condriictios

en la actividad pesquera Argentina. En: Wöhler, O.C., Cedrola, P., Cousseau, M.B. (Eds.). Contribuciones sobre la biología, pesca y comercialización de tiburones en la Argentina. Aportes para la elaboración del plan de acción nacional. Buenos Aires, Consejo Federal Pesquero, 193-205p.

Massa, A., Hozbor, N., Colonello, J.H. 2008. Análisis de la explotación y recomendaciones del manejo de rayas, pez angel y gatucho en la zona común de pesca argentino-uruguaya. INIDEP Inf. Tec. Nº 14.

Massa, A., Hozbor, N., Vooren, C.M. 2006. *Atlantoraja cyclophora*. The IUCN Red List of Threatened Species. e.T61398A12462475.

Massa, A.M., Lucifora, L.O. y Hozbor, N.M. 2004. Condriactios de la región costera bonaerense y uruguaya. En: Sánchez, R. y Bezzi, S. (Eds.). El Mar Argentino y sus recursos pesqueros. Tomo 4. Los peces marinos de interés pesquero. Caracterización biológica y evaluación del estado de explotación. INIDEP, Mar del Plata, 85-99p.

Martin, L.K. y Cailliet, G.M. 1988. Aspects of the reproduction of the bat ray, *Myliobatis californica* in Central California. *Copeia*. 3:754-762.

Matthews, L.H. 1950. Reproduction in the basking shark, *Cetorhinus maximus* (Gunner). *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* 234:247-316.

McClusky, L.M. 2012. Coordination of spermatogenic processes in the testis: lessons from cystic spermatogenesis. *Cell. Tiss. Res.* 349:703-715.

McEachran, J.D. y Fechhelm, J.D. 1998. Fishes of the Gulf of Mexico: Myxiniformes to Gasterosteiformes. University of Texas Press, Austin, 1112 pp.

McEachran, J.D y Dunn, K. 1998. Phylogenetic analysis of skates, a morphologically conservative clade of Elasmobranchs (Chondrichthyes: Rajidae). *Copeia*. 271-290.

McFarlane, G.A., King, J.R. 2006. Age and growth of big skate (*Raja binoculata*) and longnose skate (*Raja rhina*) in British Columbia waters. *Fish Res.* 78(2-3):169-78.

McMannus, J.F.A. 1946. Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*. 158-202.

McMillan, D.B. 2007. Fish histology. Female reproductive systems. Springer, Dordrecht, Netherlands, 598 pp.

Menni, R.C. y Stehmann, M.F.W. 2000. Distribution, environment and biology of batoid fishes off Argentina, Uruguay and Brazil. A review. *Rev. Museo Arg. Cs. Nat.* 2:69-109.

Menni, R.C., Jaureguizar, A.J., Stehmann, M.F.W. y Lucifora, L.O. 2010. Marine biodiversity at the community level: zoogeography of sharks, skates, rays and chimaeras in the Southwestern Atlantic. *Biodivers. Conserv.* 19:775-796.

Menni, R.C. y López, H.L. 1984. Distributional patterns of Argentine marine fishes. *Physis* 42(A):71-85.

Metten, H. 1939. Studies on the reproduction of the dogfish. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.* 230(569): 217-238.

Miracle, A.L., Anderson, M.K., Litman, R.T., Walsh, C.J., Luer, C.A., Rothenberg, E.V., y Litman, G.W. 2001. Compelx expression patterns of lymphocyte-specific genes during the development of cartilaginous fish implicate unique lymphoid tissues in generating an immune repertoire. *Int. Immunol.* 13:567-580.

Mucientes, G.R., Queiroz, N., Sousa, L.L., Tarroso, P. y Sims, D.W. 2009. Sexual segregation of pelagic sharks and the potential threat from fisheries. *Biology Letters.* 5:156-159.

Musick, J.A. y Ellis, J.K. 2005. Reproductive evolution of Chondrichthyans. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. NH: Science Publishers Incorporated, Enfield, 45-80 p.

Musick. J.A. 2005. Introduction: management of sharks and their relatives (Elasmobranchii). En: Musick, J.A. y Bonfil, R. (Eds). Management techniques for elasmobranch fisheries. FAO Fish. Tec. Pap. Nº 474, Rome, 1-5 p.

Modig, C., Westerlund, L. y Olsson, P.E. 2007. Oocyte zona pellucid proteins. En: Babin, P.J., Cerdà, J. y Lubzens, E. (Eds.). The fish oocyte. From basic studies to biotechnological applications. Springer, Netherlands, 508 pp.

Moura, T., Serra-Pereira, B., Gordo, L.S. y Figueiredo, I. 2011. Sperm storage in males and females of the deepwater shark Portuguese dogfish with notes on oviducal gland microscopic organization. *J. Zool.* 283:210-219.

Mowry, R.W. 1956. Alcian blue technics for the histochemical study of acidic carbohydrates. *J. Histochem. Cytochem.* 4:407.

Moya, A.C. 2016. Biología reproductiva de dos especies de rayas del golfo San Matías: la raya platana *Atlantoraja platana* y la raya marmorada *Sympterygia bonapartii*. Un enfoque morfofuncional. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina, 198 pp.

Moya, A.C., Díaz Andrade, M.C. y Galíndez, E.J. 2015. Morphology and dynamics of male gametogenesis in *Sympterygia bonapartii* (Chondrichthyes, Rajidae) from Northern Patagonia. *Iheringia, Série Zoologia.* 105(3):316-324.

- Moya, A.C., Wehitt, A., Díaz Andrade, M.C., Di Giacomo, E.E. y Galíndez, E.J. 2017.** Female reproductive traits of a commercially exploited skate: *Atlantoraja platana* (Günther, 1880) (Chondrichthyes, Rajidae). Ovarian morphology, gametogenesis and microscopic verification of maturity criteria. *Micron*. 101:232-240.
- Nelson, J. S., Grande, T. y Wilson, M.V.H. 2016.** Fishes of the world. Hoboken, New Jersey, 707 pp.
- Oddone, M.C., Amorim, A.F. 2007.** Length-weight relationships, condition and population structure of the genus *Atlantoraja* (Elasmobranchii, Rajidae, Arhynchobatinae) in Southeastern Brazilian waters, SW Atlantic Ocean. *J. Northw. Atl. Fish Sci.* 38:43-52.
- Oddone, M.C., Amorim, A.F., Mancini, P.L., Norbis, W. y Velasco, G. 2007.** The reproductive biology and cycle of *Rioraja agassizi* (Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes: Rajidae) in southeastern Brazil, SW Atlantic Ocean. *Sci. Mar.* 71(3):593-604.
- Oddone, M.C. y Vooren, C.M. 2005.** Reproductive biology of *Atlantoraja cyclophora* (Regan 1903) (Elasmobranchii: Rajidae) off southern Brazil. *ICES J. Mar. Sci.* 62(3):1095-103.
- Oddone, M.C. y Vooren, C.M. 2004.** Distribution, abundance and morphometry of *Atlantoraja cyclophora* (Regan, 1903) (Elasmobranchii: Rajidae) in southern Brazil, Southwestern Atlantic. *Neotrop. Ichthyol.* 2(3):137-44.
- Oddone, M.C., Norbis, W., Mancini, P.L. y Amorim, A.F. 2008.** Sexual development and reproductive cycle of the eyespot skate *Atlantoraja cyclophora* (Regan, 1903) (Chondrichthyes: Rajidae: Arhynchobatinae), in southeastern Brazil. *Acta Adriat.* 49(1):73-87.
- Orlando, L., Pereyra, I., Paesch, L., Norbis, W. 2011.** Size and sex composition of two species of the genus *Atlantoraja* (Elasmobranchii, Rajidae) caught by the bottom trawl fisheries operating on the Uruguayan continental shelf (Southwestern Atlantic Ocean). *Braz. J. Oceanogr.* 59(4):357-64.
- Otake, T. 1990.** Classification of reproductive modes in sharks with comments on female reproductive tissues and structures. En: Pratt, H.L. Gruber, S.H. y Taniuchi, T. (Eds.). Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematics, and the Status of the Fisheries. U.S. Department of Commerce, NOAA Tech. Rep. Nº 90. 111-130 p.
- Paesch, L. y Domingo, A. 2003.** La pesca de condriactios en el Uruguay. *Frente Marítimo*. 19:207-16.

- Paesch, L. y Oddone, M.C. 2008.** Change in size-at-maturity of the yellownose skate *Dipturus chilensis* (Guichenot, 1848) (Elasmobranchii: Rajidae) in the SW Atlantic. *Neot. Ichthyol.* 6(2):223-230.
- Parsons, G.R. y Grier, H.J. 1992.** Seasonal Changes in Shark Testicular Structure and Spermatogenesis. *J. Exp. Zool.* 261:173-184.
- Patrucco, M., Massa, A.M. y Hozbor, N.M. 2011.** Declaración de las exportaciones de rayas en la Argentina. INIDEP Inf. Téc. Nº 80.
- Pauly, D. 1984.** Fish population dynamics in tropical waters: a manual for use with programmable calculators. ICLARM, Manila, Philippines, 325 pp.
- Pedrerros-Sierra, T. y Ramírez-Pinilla, M.P. 2015.** Morphology of the reproductive tract and acquisition of sexual maturity in males of *Potamotrygon magdalenae* (Elasmobranchii: Potamotrygonidae). *J. Morphol.* 276:273-289.
- Pedrerros Sierra, T., Arrieta Prieto, D.M. y Mejía Falla, P.A. 2016.** Reproductive system of females of the magdalena river endemic stingray *Potamotrygon magdalenae*: anatomical and functional aspects. *J. Morphol.* 277:680-697.
- Perez Comesaña, J.E., Tamini, L.L. y Chiaramonte, G.E. 2011.** El desembarque de batoideos de interés comercial en Puerto Quequén, Provincia de Buenos Aires. Los condriictios en la actividad pesquera argentina. En: Wöhler, O.C., Cedrola, P. y Cousseau, M.B. (Eds). Contribuciones sobre la biología, pesca y comercialización de tiburones en la Argentina. Aportes para la elaboración del plan de acción nacional. Consejo Federal Pesquero, Buenos Aires, 207-215 p.
- Perez Comesaña, J.E y Nogueira, J.L. 2013.** Evolución de la pesca costera de arrastre de fondo en Puerto Quequén, provincia de Buenos Aires, Argentina: Periodo 1999-2010. *Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat.* 15(2):183-190.
- Peres, M.B. y Vooren, C.M. 1991.** Sexual development, reproductive cycle, and fecundity of the school shark, *Galeorhinus galeus* off Southern Brazil. *Fish. Bull.* 89:655-667.
- Perier, R., Estalles, M., Coller, M. y Di Giacomo, E.E. 2010.** Reproductive biology of the endemic skate *Psammobatis lentiginosa* in the San Matías Gulf (south-western Atlantic). *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 91(6):1165-173.
- Porcu, C., Marongiu, M.F., Follesa, M.C, Bellodi, A., Mulas, A., Pesci, P. y Cau, A. 2014.** Reproductive aspects of the velvet belly *Etmopterus spinax* (Chondrichthyes: Etmopteridae), from the central western Mediterranean Sea. Notes on gametogenesis and oviducal gland microstructure. *Med. Mar. Sci.* 15(2):313-326.

- Poulakis, G.R. y Grier, H.J. 2014.** Ontogenetic testicular development and spermatogenesis in rays: the cownose ray, *Rhinoptera bonasus*, as a model. *Environ. Biol. Fish.* 97:1013-1029.
- Pratt Jr., H.L. 1993.** The storage of spermatozoa in the oviducal glands of western North Atlantic sharks. *Environ. Biol. Fish.* 38:139-149.
- Pratt Jr., H.L. 1988.** Elasmobranch gonad structure: a description and a survey. *Copeia* 1988:719-729.
- Pratt, H.L. y Tanaka, S. 1994.** Sperm storage in male elasmobranchs: a description and survey. *J. Morph.* 219:297-308.
- Prisco, M., Liguoro, A., D'onghia, B., Ricchiari, L., Andreuccetti, P. y Angelini, F. 2002a.** Fine structure of Leydig and Sertoli cells in the testis of immature and mature spotted ray *Torpedo marmorata*. *Mol. Reprod. Dev.* 63:192-201.
- Prisco, M., Loredana, R. y Piero, A. 2002b.** Ultrastructural studies on developing follicles of the spotted ray *Torpedo marmorata*. *Mol. Rep. Develop.* 61:78-86.
- Prisco, M., Ricchiari, L. y Andreuccetti, P. 2001.** An ultrastructural study of germ cells during ovarian differentiation in *Torpedo marmorata*. *Anat. Rec.* 263(3):239-247.
- Prisco, M., Romano, M., Ricchiari, L., Limatola, E. y Andreuccetti, P. 2002c.** An ultrastructural study on the vitellogenesis in the spotted ray *Torpedo marmorata*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 128:171-179.
- Prisco, M., Liguoro, A., Ricchiari, L., Del Giudice, G. y Andreuccetti, P. 2007.** Oogenesis in the spotted ray *Torpedo marmorata*. *Rev. Fish Biol. Fisheries.* 17:1-10.
- Pudney, J. 1995.** Spermatogenesis in nonmammalian vertebrates. *Microsc. Res. Tech.* 32:459-497.
- Pudney, J. y Callard, G.V. 1984.** Development of agranular reticulum in sertoli cells of the testis of the dogfish *Squalus acanthias* during spermatogenesis. *Anat. Rec.* 209:311-321.
- Pudney, J. y Callard, G.V. 1986.** Sertoli cell cytoplasts in the semen of the spiny dogfish *Squalus acanthias*. *Tissue Cell.* 18(3):375-382.
- Ravaglia, M.A. y Maggese, M.C. 2003.** Ovarian follicle ultrastructure in the teleost *Synbranchus marmoratus* (Bloch, 1795), with special reference to the vitelline envelope development. *Tissue Cell.* 35:9-17.

- Reardon, M.B, Walker, T.I., y Hamlett, W.C. 2002.** Microanatomy of spermatophore formation and male genital ducts in the holocephalan, *Callorhynchus milii*. *Mar. Freshwater Res.* 53:591–600.
- Rigby, C., y Simpfendorfer, C.A. 2015.** Patterns in life history traits of deep-water chondrichthys. *Deep Sea Res. PT II.* 115:30–40.
- Roa, R., Ernst, B. y Tapia, F. 1999.** Estimation of size at sexual maturity: an evaluation of analytical and resampling procedures *Fish. Bull.* 97:570-580.
- Robbins, R.L. 2007.** Environmental variables affecting the sexual segregation of great white sharks *Carcharodon carcharias* at the Neptune Islands South Australia. *J. Fish Biol.* 70:1350-1364.
- Rosa, R.S., Charvet-Almeida, P., y Quijada, C.C.D. 2010.** Biology of the South American potamotrygonid stingrays. En: Carrier, J.C., Musick, J.A. y Heithaus, M.R. (Eds.). *Sharks and their relatives II. Biodiversity, adaptive physiology, and conservation.* CRC Press, Boca Raton, Florida, 241-281 p.
- Roose Runge, E.C. 1977.** The process of spermatogenesis in animals Cambridge University Press, Cambridge, 102-132p.
- Rouset, J. 1990.** Population structure of thornback rays *Raja clavata* and their movements in the bay of douarnenez. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 70:261-268.
- RStudio Team. 2016.** RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Ruckstuhl, K.E. y Neuhaus, P. 2005.** Sexual Segregation in Vertebrates: Ecology of the Two Sexes. Cambridge University Press, 488 pp.
- Ruocco, N.L., Lucifora, L.O., Díaz de Astarloa, J.M., Wöhler, O. 2006.** Reproductive biology and abundance of the white-dotted skate, *Bathyraja albomaculata*, in the Southwest Atlantic. *ICES J. Mar. Sci.* 63(1):105-16.
- San Martín, M.J., Perez, J.E., Chiaramonte, G.E. 2005.** Reproductive biology of the South West Atlantic marbled sand skate *Psammobatis bergi* Marini, 1932 (Elasmobranchii, Rajidae). *J. Appl. Ichthyol.* 21(6):504-10.
- Scelzo, M.A., Martinez Arca, J., Lucero, N.M. 2002.** Diversidad densidad y biomasa de la macrofauna componente de los fondos de pesca “camarón-langostino” frente a Mar del Plata, Argentina (1998-1999). *Rev. Invest. Desarr. Pesq.* 15:43-65.
- Scenna, L.B. 2011.** Biología y ecología reproductiva de las especies del género *Bathyraja* (Elasmobranchii, Rajidae) en la plataforma continental argentina. Tesis Doctoral, Mar del Plata, Argentina, 176 pp.

Schlaff, A.M., Heupel, M.R. y Simpfendorfer, C.A. 2014. Influence of environmental factors on shark and ray movement, behaviour and habitat use: a review. *Rev. Fish. Biol. Fisher.* 24:1089-1103.

Serra-Pereira, B., Afonso, F. Farias, I., Joyce, P., Ellis, M., Figueiredo, I., Serrano Gordo, L. 2011a. The development of the oviducal gland in the Rajid thornback ray, *Raja clavata*. *Helgol. Mar. Res.* 65:399–411.

Serra-Pereira, B., Figueiredo, I. y Serrano Gordo, L. 2011b. Maturation of the Gonads and Reproductive Tracts of the Thornback Ray *Raja clavata*, with Comments on the Development of a Standardized Reproductive Terminology for Oviparous Elasmobranchs. *Mar. Coast. Fish. Dyn. Manag. Ecosyst. Sci.* (3):160-175.

Settembrino, C.S. 2013. Morfología y microscopia testicular de *Myliobatis goodei* (Chondrichthyes, Dasyatidae). Tesis de grado. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, 42 pp.

Sims, D.W., Nash, J.P. y Morritt, D. 2001. Movements and activity of male and female dogfish in a tidal sea lough: alternative behavioural strategies and apparent sexual segregation. *Mar. Biol.* 139: 1165–1175.

Smith, J.W. y Merriner, J.V. 1985. Food-habits and feeding-behavior of the cownose ray, *Rhinoptera bonasus*, in Lower Chesapeake Bay. *Estuaries.* 8:305–310.

Smith, R.M., Walker, T.I. y Hamlett, W.C. 2004. Microscopic organization of the oviducal gland of the holocephalan elephant fish, *Callorhynchus millii*. *Mar. Freshwater Res.* 55: 155-164.

Snelson, F.F., Williams-Hooper, S.E. y Schmid, T.H. 1988. Reproduction and ecology of the Atlantic stingray, *Dasyatis sabina*, in Florida coastal lagoons. *Copeia.* 729-739.

Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1987. Introduction to biostatistics. WH Freeman and Company, New York, 915 pp.

Stanley, H.P. 1963. Urogenital morphology in the chimaeroid fish *Hydrolagus colliei* (Lay and Bennett). *J. Morphol.* 112:99-127.

Stanley, H.P. 1966. The structure and development of the seminiferous follicle in *Scyliorhinus caniculus* and *torpedo marmorata* (Elasmobranchii). *Z. Zellforsch.* 75:453-68.

Steedman, H.F. 1950. Alcian Blue 8 GX: A new stain for mucin. *Quart. J. Microbiol. Sci.* 91: 477.

Stehmann, M. 2002. Proposal of a maturity stages scale for oviparous and viviparous cartilaginous fishes (Pisces, Chondrichthyes). *Archives of Fisheries and Marine Research* 50:23–48.

- Stevens, J.D., Bonfil, R., Dulvy, N.K. y Walker, P.A. 2000.** The effects of fishing on sharks, rays and chimaeras (Chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES J. Mar. Sci.* 57: 476-494.
- Storrie, M. 2004.** Microscopic modifications of the female reproductive tissues of *Mustelus antarticus*. Thesis submitted in fulfillment for the degree of Doctor of Philosophy, Deakin University, 153 pp.
- Storrie, M.T., Walker, T.I., Laurenson, L.J. y Hamlett, W.C. 2008.** Microscopic organization of the sperm storage tubules in the oviducal gland of the female gummy shark (*Mustelus antarcticus*), with observations on sperm distribution and storage. *J. Morphol.* 269:1308–1324.
- Tamini, L.L., Chiaramonte, G.E., Perez, J.E., Cappozzo, H.L. 2006.** Batoids in a coastal trawl fishery of Argentina. *Fish. Res.* 77(3):326-32.
- Taylor, S.M., Harry, A.V. y Bennett, M.B. 2016.** Living on the edge: latitudinal variations in the reproductive biology of two coastal species of sharks. *J. Fish Biol.* 89(5):2399–2418.
- Templeman, W. 1987.** Differences in sexual maturity and related characteristics between populations of thorny skate (*Raja radiata*) in the Northwest Atlantic. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 7:155-167.
- Ungaro, N. 2004.** Biological parameters of the brown ray, *Raja miraletus*, in the Southern Adriatic basin. *Cybium*. 28(2):174-76.
- Vögler, R., Milessi, A.C. y Quiñones, R.A. 2008.** Influence of environmental variables on the distribution of *Squatina guggenheim* (Chondrichthyes, Squatinidae) in the Argentine-Uruguayan Common Fishing Zone. *Fish. Res.* 91:212-221.
- Vooren, C.M. 1997.** Demersal elasmobranchs. En: Seeliger, U., Odebrecht, C. y Castello, J.P. (Eds). Subtropical Convergence Environments: The Coast and Sea in the Southwestern Atlantic. Springer-Verlag, Heidelberg, Alemania, 141-146p.
- Walker, T. 2005.** Reproduction in fisheries Science. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. NH: Science Publishers Incorporated, Enfield, 81-127p.
- Walmsley-Hart, S.A., Sauer, W.H.H. y Buxton, C.D. 1999.** The biology of the skates *Raja wallacei* and *R. pullopunctata* (Batoidea: Rajidae) on the Agulhas Bank, South Africa. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 21:165-179.

- Waltrick, D. S., Simpfendorfer, C.A. y Awruch, C.A. 2016.** A review on the morphology of ovarian follicles in Elasmobranchs: A case study in *Rhizoprionodon taylori*. *J. Morphol.* 278:486–499.
- Wehitt, A., Di Giacomo, E.E. y Galíndez, E.J. 2015.** The Female Reproductive System of *Zearaja chilensis* (Guichenot, 1848) (Chondrichthyes, Rajidae). Gametogenesis and Microscopic Validation of Maturity Criteria. *Int. J. Morphol.* 33(1):309-317.
- Wearmouth, V.J. y Sims, D.W. 2008.** Sexual segregation in marine fish, reptiles, birds and mammals: behaviour patterns, mechanisms and conservation implications. *Adv. Mar. Biol.* 54: 107–170.
- Weigmann, S. 2016.** Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. *J. Fish Biol.* 88: 837–1037.
- Wourms, J.P. y Demski, L.S. 1993.** The reproduction and development of sharks, skates, rays and ratfishes: introduction, history, overview, and future prospects. *Environ. Biol. Fishes* 38:7-21.
- Wourms, J.P. 1977.** Reproduction and development in chondrichthyan fishes. *Amer. Zool.* 17:379-410.
- Wourms, J.P. 1981.** Viviparity: The maternal-fetal relationship in fishes. *Amer. Zool.* 21 (2): 473-515.
- Yamaguchi, A., Taniuchi, T., Shimizu, M. 2000.** Geographical variations in reproductive parameters of the starspotted dogfish, *Mustelus manazo*, from five localities in Japan and in Taiwan. *Environ. Biol. Fish.* 57(2):221-33.
- Yano, K. 1992.** Comments on the reproductive mode of the false cat shark *Pseudotrakis microdon*. *Copeia*. 460-468.
- Yano, K. 1993.** Reproductive biology of the slender smoothhound, *Gollum attenuatus*, collected from New Zealand waters. *Environ. Biol. Fish.* 38: 59-71.
- Young, J.Z. 1995.** Physiology and pharmacology of the oviduct of Raja and Scylliorhinus. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 350:143-151.
- Zaiden, S.F., Brinn, R.P., Marcon, J.L. y Urbinati, E.C. 2010.** Testicular structure and spermatogenesis of Amazonian freshwater cururu stingray *Potamotrygon* cf. *histrix*. *Zygote*. 19:245–253.
- Zar, J.H. 1999.** Biostatistical analysis. Upper Saddle River (NJ), Prentice Hall, 663 pp.